

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS



TESIS DOCTORAL

**Síntesis de propinilaminas indólicas como inhibidores de
monoaminooxidasa**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

María Esther Rubio Herráez

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION DE QUIMICAS



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5322347913

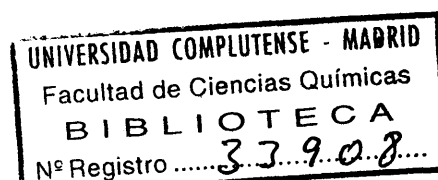
T1

547

RUB

**SINTESIS DE PROPINILAMINAS INDOLICAS
COMO INHIBIDORES DE MONOAMINOOXIDASA**

TESIS



*Presentada para optar al grado de Doctor en Ciencias,
Sección de Químicas, por*

62347192X

MARIA ESTHER RUBIO HERRAEZ

Maria Esther Rubio

Este trabajo ha sido realizado en la Sección de Enzimoquímica, Departamento de Productos Naturales, del Instituto de Química Orgánica General, (Centro Nacional de Química Orgánica), del Patronato de Investigación Científica y Técnica "Juan de la Cierva" del C.S.I.C., bajo la supervisión del Profesor Dr. D. Manuel Lora-Tamayo, Director del Centro, y la dirección de los Profesores de Investigación, Dr. D. Eldiberto Fernández Alvarez, Jefe del Departamento, y Dr. D. Antonio Alemany Soto. A ambos nuestro más sincero agradecimiento.

Asimismo, agradecemos al Ministerio de Educación y Ciencia la ayuda económica prestada a través de la concesión de una de sus becas de Formación del Personal Investigador durante el período 1971-73; a todos los compañeros de la Sección su ayuda en la resolución de diversos problemas, y al personal del Departamento de Análisis y Técnicas Instrumentales, que dirige el Dr. Calderón, su colaboración en la realización de microanálisis y espectros.

Madrid, Julio de 1.973

INDICE

Pag.

PARTE I

INTRODUCCION.....	1
Las aminos biógenas en relación con los fenómenos psíquicos. Biosíntesis y metabolismo.....	2
Aminooxidasas. Clasificación. Mecanismo de acción y efectos fisiológicos de su inhibición.....	9
Tipos de inhibidores de monoaminoxidasa. Pargili- nas.....	15
Propiedades psicofarmacológicas de los compuestos indólicos.....	20
Plan de trabajo.....	23

PARTE II

SINTESIS DE PROPINILAMINAS INDOLICAS	
Discusión de métodos y resultados.....	25
Estudio del Esquema I de síntesis:	
Alquilación del indol.....	28
Síntesis de aminos secundarias.....	28
Estudio del Esquema II de síntesis:	
Síntesis de los ácidos 1-metil y 1-bencilindolil- 3-acético.....	33
Síntesis de aminos secundarias.....	35
Síntesis de aminos terciarias.....	37

	Pag.
DISCUSION DE LOS ESPECTROS IR Y RMN	
Discusión de los espectros IR.....	39
Discusión de los espectros RMN.....	44
PARTE EXPERIMENTAL	
Métodos generales.....	52
Preparación de intermediarios.....	54
Preparación de ácidos indol-3-acéticos.....	55
Preparación de cloruros de ácidos indolil-3-glioxilicos.....	59
Preparación de indolil-3-glioxilamidas.....	61
Preparación de indolil-3-acetamidas.....	66
Preparación de aminas secundarias.....	70
Preparación de aminas terciarias.....	90

PARTE III

INHIBICION DE MONOAMINOOXIDASA POR PROPINILAMINAS INDOLICAS

MÉTODOS PARA LA DETERMINACION DE MONOAMINOOXIDASA	105
Método colorimétrico y de difusión para la determinación de agua oxigenada y amoníaco.....	106
Métodos colorimétricos y espectrofotométricos para la determinación de aldehidos.....	106
Método manométrico.....	108
Métodos espectrofotométricos.....	109
Elección del método de trabajo.....	110
PARTE EXPERIMENTAL	
Preparación de la enzima.....	111
Determinación manométrica de monoaminoxidasa y ensayo de inhibidores.....	112
Ensayo de inhibidores de MAO.....	115

	Pag.
Tablas de resultados de los ensayos de los productos como inhibidores de MAO.....	117
Comentarios de los resultados y relaciones estructura-actividad.....	122

PARTE IV

TABLAS ESPERIMENTALES DE CONSTANTES Y DATOS DE ESPECTROSCOPIA RMN.....	128
CONCLUSIONES Y RESULTADOS.....	174
BIBLIOGRAFIA.....	181

PARTE I

OBJETIVOS Y JUSTIFICACION DEL TRABAJO

INTRODUCCION

El objetivo de este trabajo ha sido la preparación de una serie de propinilaminas indólicas y su estudio y valoración in vitro como inhibidores de la enzima monoaminoxidasa (MAO), sobre la base de que los inhibidores de estas enzimas tienen gran interés como agentes químico-terapéuticos en el tratamiento de ciertos estados patológicos del sistema nervioso central, como agentes cardiovasculares y algunos otros campos farmacológicos y clínicos.

Este trabajo forma parte de un plan más amplio, con secuencia y continuación de los programas en desarrollo en la Sección de Enzimoquímica del Instituto de Química Orgánica General, a cerca de la preparación de diversos tipos de derivados indólicos para su estudio como inhibidores de la formación y metabolismo de las aminas biógenas y agentes terapéuticos potenciales.

Nuestro trabajo se ha orientado particularmente a la preparación y estudio de derivados indólicos de la propinil amina como inhibidores de MAO y posibles agentes psicoterapéuticos, ya que, entre las aminas biógenas, tales como catecolaminas, indoletilaminas e histamina, que presentan importantes acciones fisiológicas relacionadas, según los casos, con el sistema nervioso central, sistema circulatorio, glucemias, neurosecreciones, reacciones inflamatorias etc., y en cuyo metabolismo están implicadas las monoaminooxidasas, las catecolaminas y la serotonina tienen un interés especial e implicación en el sistema nervioso central.

Para comprender mejor las razones que nos han llevado a desarrollar este trabajo comentaremos primero el papel

de las aminas biógenas en la regulación del tono psíquico del individuo y algunas de sus funciones fisiológicas, así como la misión e importancia de las monoaminooxidasas.

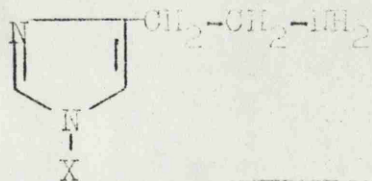
Resumiremos también las características más importantes conocidas de estas enzimas, referentes a su historia y estructuras químicas más interesantes, supuestos mecanismos de acción y por último un breve estudio sobre la aplicación de los derivados del indol como psicofármacos e inhibidores de MAO.

LAS AMINAS BIOGENAS EN RELACION CON LOS FENOMENOS PSIQUICOS. BIOSINTESIS Y METABOLISMO.

En los últimos años se ha puesto un gran interés en el estudio de las aminas biógenas (1) por el lugar clave que ocupan en la bioquímica del cerebro y sus funciones. Gran parte de la investigación está orientada hacia la búsqueda y estudio de sustancias que interfirieran con su biosíntesis, acumulación y metabolismo.

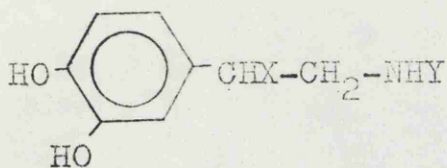
La mayor parte de los autores agrupan estas aminas en tres tipos de sustancias:

- a) Catecolaminas (dopamina, norepinefrina, epinefrina etc.) (I)
- b) Serotonina y en general 5-indoletilaminas (II)
- c) Histamina y análogos. (III)

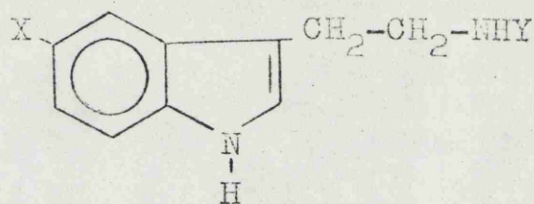


III

- a) X=H Histamina
- b) X=CH₃ N-metilhistamina



I



II

- | | |
|--------------------------------------|--|
| a) X=H Y=H Dopamina | a) X=H Y=H Triptamina |
| b) X=OH Y=H Norepinefrina | b) X=OH Y=H Serotonina |
| c) X=OH Y=CH ₃ Epinefrina | c) X=CH ₃ O Y=CH ₃ CO Melatonina |

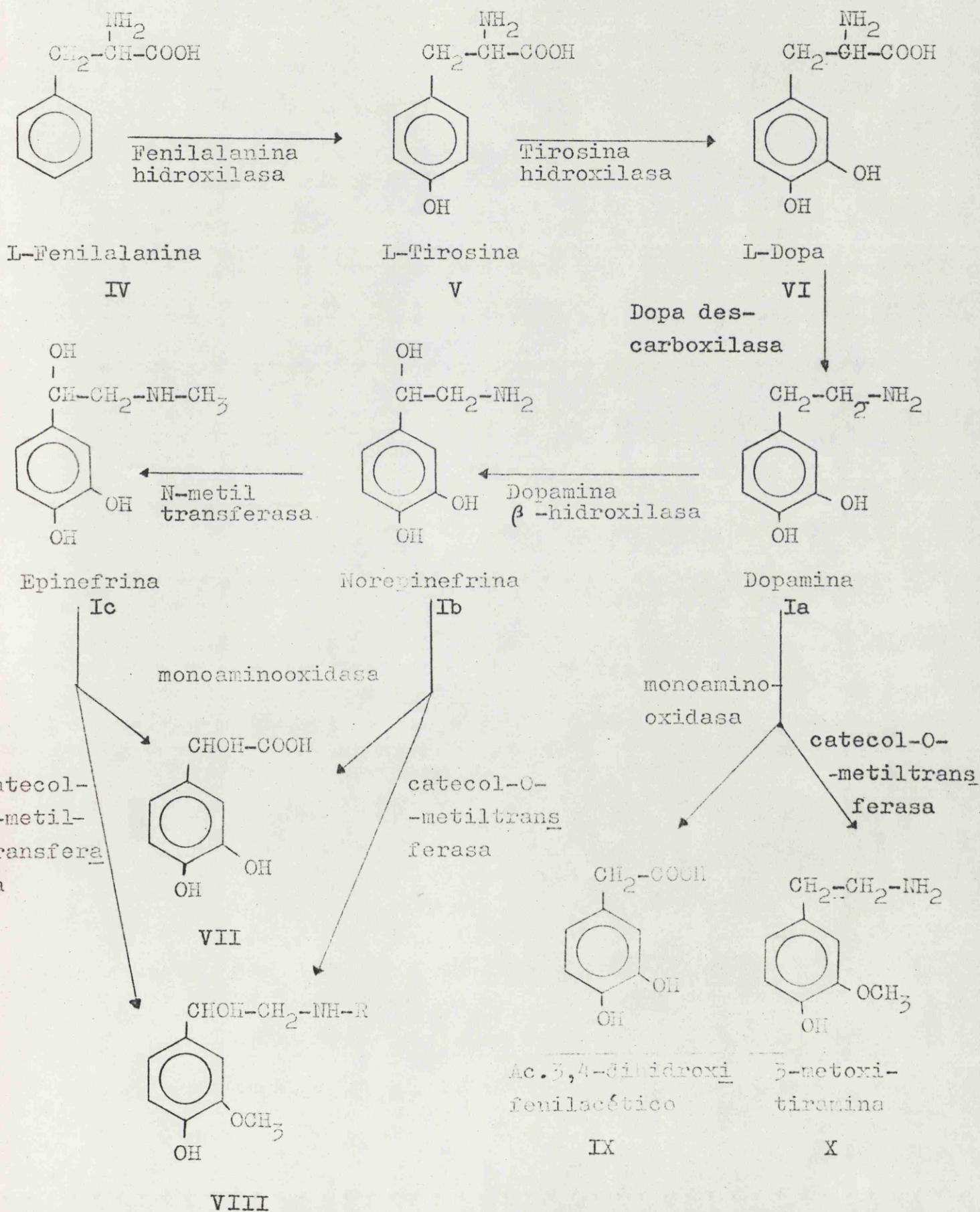
La formación de aminas biógenas así como su degradación o inactivación fisiológica y su modo de acción son prácticamente idénticas para los tres tipos de sustancias.

La biosíntesis ocurre por descarboxilación del correspondiente aminoácido, L-fenilalanina (IV), L-triptofano (XI) y L-histidina (XVII), catalizada por las correspondientes descarboxilasas (descarboxilasa de aminoácidos aromáticos y L-histidina descarboxilasa) y a través de reacciones de hidroxilación y/o N-metilación, catalizadas por enzimas específicas en cada caso. El metabolismo puede seguir rutas diversas, que ocasionalmente se entrecruzan. La inactivación ocurre por desaminación oxidativa catalizada por aminooxidasas y a su vez las catecolaminas pueden experimentar O-metilación en su grupo OH en posición meta, así como la serotonina en su grupo 5-OH, catalizada por O-metiltransferasas y la histamina N-metilación catalizada por una N-metiltransferasa. Por otra parte, los O-metil y N-metil derivados formados pueden ser sustratos de las monoaminooxidasas.

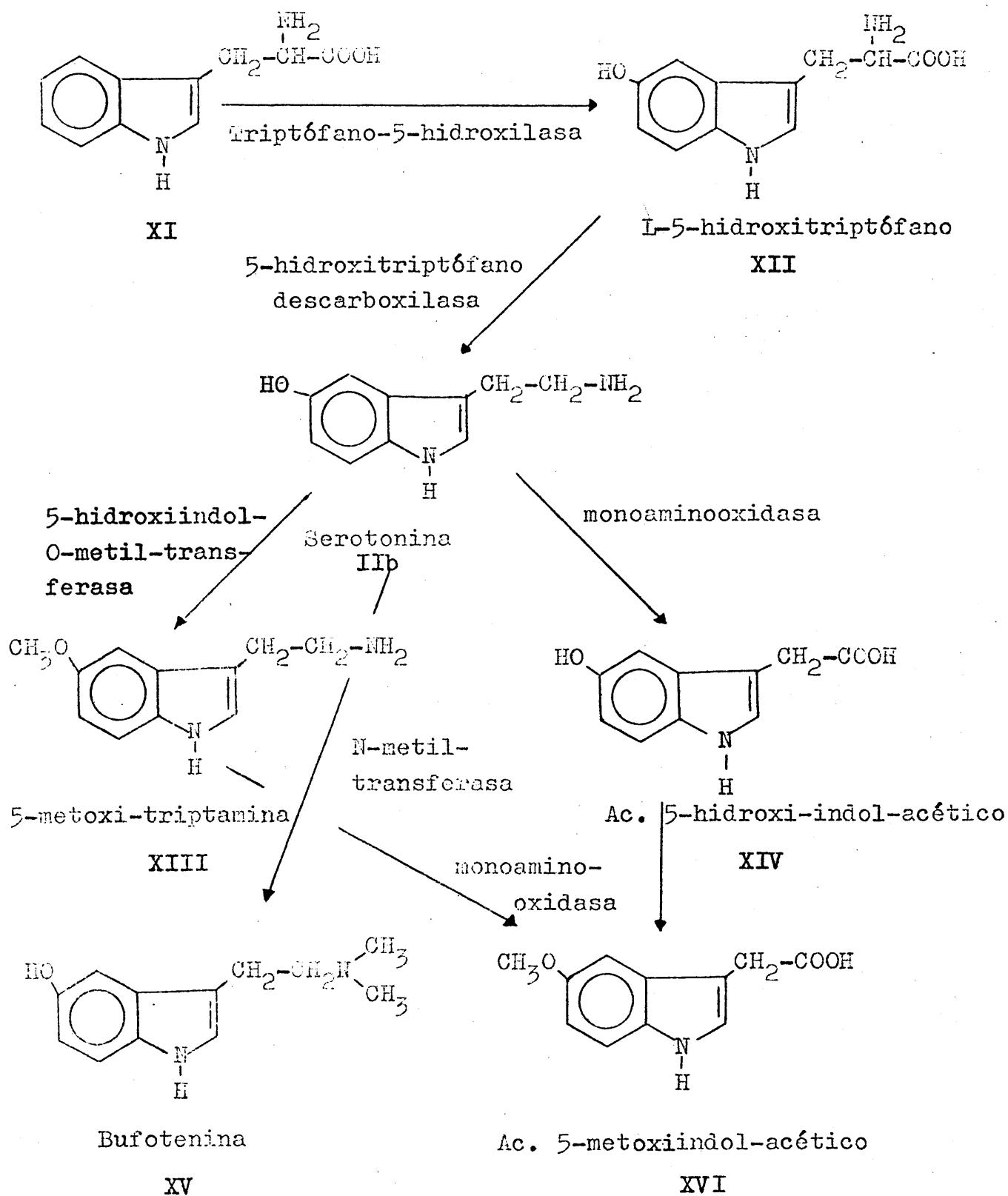
Las reacciones implicadas se ilustran en las páginas 4, 5 y 6.

La distribución de las aminas biógenas en el cerebro no es uniforme. Norepinefrina, dopamina y serotonina han si-

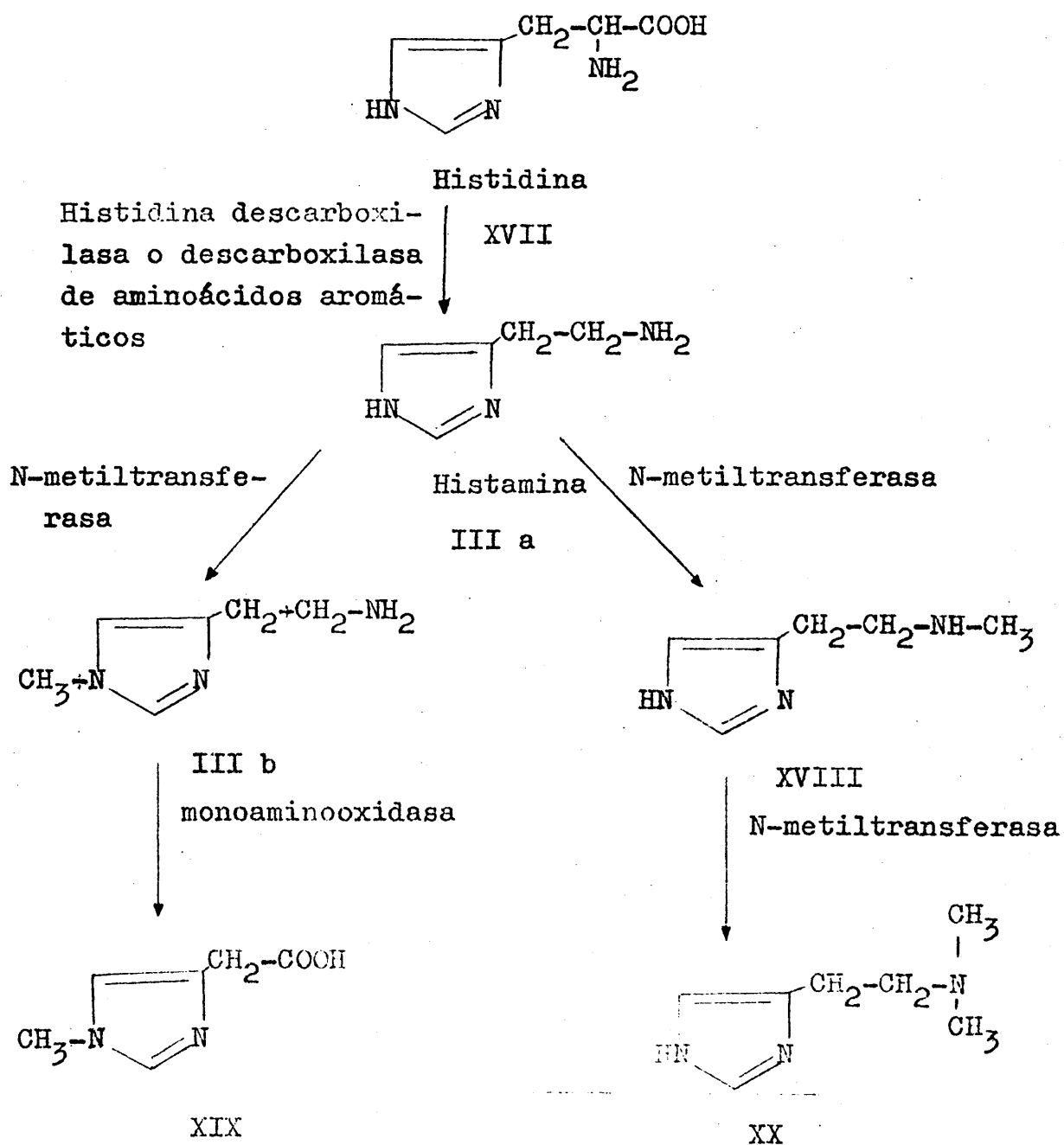
Biogénesis y metabolismo de catecolaminas



Biogénesis y metabolismo de serotonina



Biogénesis y metabolismo de histamina



do detectadas en las células nerviosas de numerosas regiones del cerebro y en fibras nerviosas, así como en los terminales del sistema nervioso simpático por el método histoquímico fluorescente.

El papel de estas aminas biógenas en el sistema nervioso central no es bien conocido. Sin embargo, se ha sugerido que norepinefrina, dopamina y serotonina tienen una función directa como sustancias transmisoras en el sistema nervioso central, aunque ninguna de ellas ha sido identificada con certeza absoluta como neurotransmisor químico. Sin embargo, está ampliamente demostrado que los estados de excitación y estímulo psíquico van acompañados de liberación y aumento de la concentración de catecolamina y serotonina en ciertas regiones cerebrales, ocurriendo lo contrario bajo estados depresivos.

Asimismo, en trastornos del sistema nervioso central, como es el síndrome de Parkinson, caracterizado por la gran disminución de la concentración de dopamina en ciertas áreas cerebrales, como se ha confirmado recientemente por el eficaz tratamiento de esta enfermedad consistente en la administración de L-dopa, como precursor de dopamina, junto con inhibidores periféricos de las descarboxilasas de aminoácidos aromáticos que inhiben el metabolismo no central de L-dopa y ocasionalmente acompañados de inhibidores de MAO que bloquean el metabolismo de dopamina y otras catecolaminas.

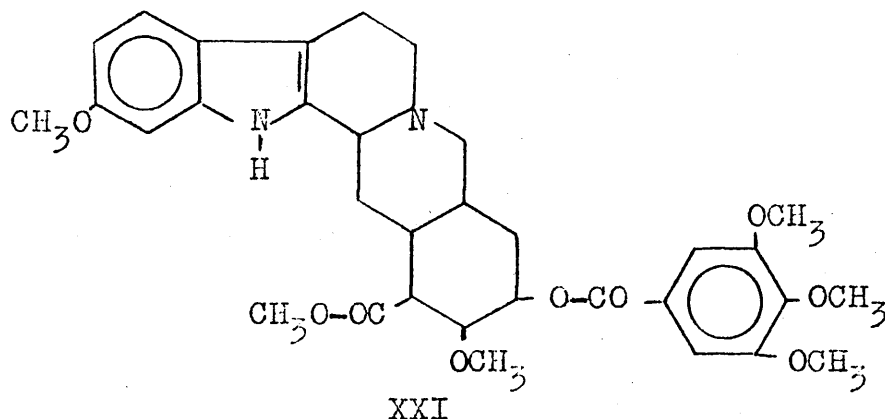
En los últimos años, una contribución importante para el esclarecimiento de las posibles relaciones entre monoaminas biógenas y el estado afectivo del hombre, ha surgido como consecuencia de los estudios del cambio en el metabolismo de monoaminas en el cerebro realizados por drogas psicótropas clínicamente activas. Así se ha comprobado que la concentración de monoaminas biógenas en el cerebro era aumen

tada por los inhibidores de MAO y en cambio era disminuida por la reserpina (XXI), el alcaloide más activo de la Rauwolfia. Estos cambios en la concentración de monoaminas en el cerebro iban acompañados por pronunciados cambios en la afectividad y en el comportamiento.

Holzbauer y Vogt (2) comprobaron que la reserpina disminuía la concentración de norepinefrina en el cerebro, Pletscher, Shore y Brodie (3) hicieron la misma observación para el caso de la serotonina y poco después Carlsson y sus colaboradores (4) comunicaron que la reserpina también disminuía el contenido de dopamina en el cerebro y causaba una deficiencia de esta amina.

La reserpina libera las monoaminas de todos los lugares de almacenamiento del cuerpo, no sólo de los tejidos cerebrales. El mecanismo de acción de la reserpina no está aún aclarado, sin embargo, parece interferir con los enlaces intraneuronales de las catecolaminas y de la serotonina permitiéndolas difundirse libremente a través del citoplasma hasta la MAO mitocondrial. De esta forma podría ocurrir una desaminación oxidativa dando como resultado la inactivación de estas aminas. El punto de vista actual a este respecto, es que la reserpina disminuye la capacidad de almacenamiento de los tejidos para catecolaminas y serotonina, pero sin influir sobre su síntesis. Recientemente Pirch, Reech y Moore (5) han descubierto que en las ratas, tras de disminuir la concentración de monoaminas en el cerebro mediante la administración de reserpina, la restitución de la serotonina es más rápida que la de norepinefrina. Bajo la acción de inhibidores de MAO la norepinefrina endógena ya no es metabolizada por MAO, pudiendo desplazar a la reserpina de aquel mecanismo y este proceso rebaja la disminución de monoaminas.

El descubrimiento de la reserpina fue una revolución



en el campo terapéutico y psiquiátrico, al demostrarse que los desordenes neuropsiquiátricos eran sensibles al tratamiento de esta droga. Primeramente fue administrada por su acción sedante a los pacientes con ansiedad, hipertensión, psicosis crónicas o conductas agresivas.

En lo referente al cerebro, las catecolaminas y serotonina se localizan principalmente en el tálamo e hipotálamo y cerebro medio, es decir en las áreas que se consideran asociadas a las sensaciones, emotividad y aparato psicomotor.

En los últimos años se han estudiado in vivo los efectos fisiológicos que acompañan a las variaciones de sus concentraciones normales en los tejidos y especialmente en el cerebro. Se ha comprobado que al inhibir in vivo su formación aparecen síntomas de psicod depresión, mientras que el bloqueo de su metabolismo va acompañado de estímulo psíquico.

AMINOOXIDASAS. CLASIFICACION. MECANISMO DE ACCION Y EFECTOS FISIOLOGICOS DE SU INHIBICION.

El grupo de las aminooxidasas comprende las enzimas capaces de producir una desaminación oxidativa. Desde su des

cubrimiento han sido varias las clasificaciones que se han hecho de las monoaminooxidasas (6). Zeller fue el primero en clasificarlas en dos grupos : monoaminooxidasas (MAO) y diaminooxidasas (DAO), basándose en suponer especificidad de sustratos para estas enzimas.

Sin embargo, pronto se vió que diaminas alifáticas de cadena larga eran sustratos de MAO y no de DAO. Posteriormente, Steensholt descubrió una monoaminooxidasa de hígado de conejo que, aparentemente, no sólo oxidaba mescalina (una monoamina típica), sino también histamina y cadaverina e incluso era inhibida por inhibidores típicos de DAO.

En años sucesivos fueron encontradas nuevas monoaminooxidasas. Así, Hirsch encontró una en la carne de vaca y en el plasma de oveja, que presentaba gran afinidad con espermina y espermidina, comprobándose que esta enzima era inhibida por inhibidores típicos de DAO, tales como cianuro, semicarbazida e hidroxilamina. Kolb descubrió otra monoaminooxidasa que degradaba rápidamente la histamina, aunque su efecto sobre cadaverina era menor. Buffoni y Blaschko obtuvieron una monoaminooxidasa cristalizada del plasma de cerdo y encontraron que su mejor sustrato era la bencilamina, sirviendo también mescalina e histamina. La enzima era inhibida por reactivos del grupo carbonilo, como hidroxilamina y semicarbazida.

Según estas consideraciones, Blaschko y sus colaboradores hicieron una nueva clasificación de aminooxidasas, tomando como base principalmente las diferencias en los tipos de inhibidores específicos en lugar de sustratos específicos, dividiéndolas en dos grupos: uno resistente a reactivos carbonílicos y otro inhibido por ellos.

GRUPO I. Aminooxidasas resistentes a reactivos carbonílicos.

- 1) Monoaminooxidasa clásica: una enzima intracelular, principalmente mitocondrial e insoluble, que está presente en muchos tejidos de animales vertebrados e invertebrados.

Las aminooxidasas de este grupo actúan sobre aminas primarias, secundarias y terciarias, y sobre diaminas alifáticas de larga cadena.

- 2) Histaminasa, en el hígado de ratón.

GRUPO II. Aminooxidasas inhibidas por reactivos carbonílicos.

- 1) Histaminasa clásica, DAO, es fundamentalmente una enzima intracelular, probablemente mitocondrial y soluble.
- 2) Enzimas del plasma, enzimas extracelulares.
- 3) Aminooxidasas de hígado de conejo, mescalina oxidasa.
- 4) Aminooxidasas en plantas, aminooxidasa en la semilla del guisante.
- 5) Aminooxidasa bacteriana, poliaminooxidasa.

Las aminooxidasas que pertenecen al grupo II oxidan a las aminas primarias, pero no actúan sobre aminas secundarias.

Otra clasificación de aminooxidasas, basada también en las diferencias frente a inhibidores específicos, fue propuesta por Zeller y sus colaboradores, según la cual las enzimas que atacan compuestos alifáticos con grupos amino terminales, pueden separarse por medio de semicarbazida en dos grupos:

GRUPO I. Monoaminooxidasas resistentes a la semicarbazida y con un sólo tipo de receptor en su centro activo.

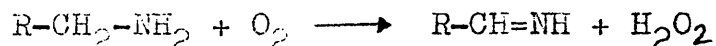
GRUPO II. Diaminooxidasas sensibles a la semicarbazida y con

dos tipos de receptores en su centro activo.

El grupo I, incluye la MAO clásica.

Según Zeller, ambos grupos de aminooxidasas forman la familia completa de enzimas homólogas. Estas enzimas tienen algún sustrato en común, como por ejemplo histamina, 1,4-metil-histamina, 1,5-metil-histamina, tiramina y mescalina, y las enzimas de ambos grupos son inhibidas por aril- y alquil-hidracinas monosustituidas. Zeller y colaboradores consideran a la hidracina y sus derivados como pseudoaminas.

El grupo de monoaminooxidasas comprende enzimas que catalizan la oxidación de una amina primaria o secundaria al correspondiente aldehído, probablemente a través de una reacción de deshidrogenación, con formación de un imino compuesto y posterior hidrólisis de este último al aldehído, liberando amoníaco y peróxido de hidrógeno (6).



El mecanismo de la transferencia electrónica de la amina al oxígeno molecular no es bien conocido, sin embargo se sabe que el oxígeno no puede reemplazarse por otro aceptor de hidrógeno.

La genética y estructura de las distintas MAO no se conoce (7). Youdim y Sourkes han sugerido que en mitocondrios de hígado de rata, existen dos tipos distintos de monoaminooxidasas, uno que depende de una coenzima que contiene riboflavina, y otro que contiene un metal como cofactor, pero que no parece ser cobre.

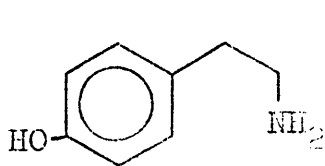
Erwin y Hellerman han purificado una monoaminooxidasa mitocondrial de riñón de vacuno, y mediante espectro fluores

cente, supusieron que esta MAO es una flavoenzima. La preparación enzimática contiene aproximadamente 1 mol de flavina por 100.000 gramos de proteína, pero el grupo prostético flavínico no pudo ser caracterizado, debido a la fuerte asociación de este grupo a la proteína.

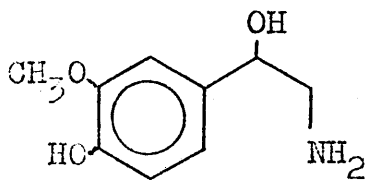
Swoboda demostró que es posible separar flavin-adenin dinucleótido (FAD) de glucosa oxidasa con inactivación irreversible de la enzima, por adición de sulfato ácido de amonio a la solución enzimática, y que esta técnica es satisfactoria también, para monoaminooxidasas.

Una prueba definitiva de que el cofactor (FAD) es responsable de la actividad de MAO, la obtuvo Tipton al conseguir separar FAD de una preparación purificada de MAO mitocondrial -- de cerebro de cerdo y reactivar posteriormente una preparación de apoenzima desactivada, por adición de FAD.

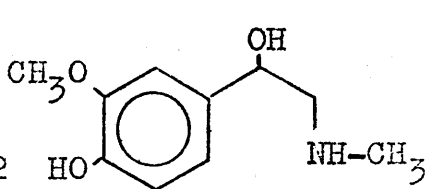
Los sustratos óptimos para la MAO clásica, son monoaminas alifáticas primarias lineales, del tipo aril-etil-aminas particularmente fenil-etil-amina, y en todo caso no ramificadas en la posición α . Los sustratos de mayor interés son: tiramina (XXII), dopamina (Ia), norepinefrina (Ib), epinefrina (Ic), normetanefrina (XXIII), metanefrina (XXIV), triptamina (IIa) y serotonina (IIb).



XXII



XXIII



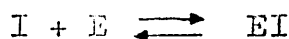
XXIV

Aunque el mecanismo de acción no está aclarado, existen hechos que apuntan hacia un proceso iniciado por la eliminación de un hidrógeno en posición α del sustrato, a la

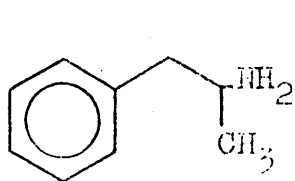
TIPOS DE INHIBIDORES DE MONOAMINOOXIDASA. PARGILINAS.

Quizás la monoaminooxidasa sea una de las enzimas con mayor número de inhibidores conocidos. Estos se pueden agrupar en dos tipos: reversibles e irreversibles.

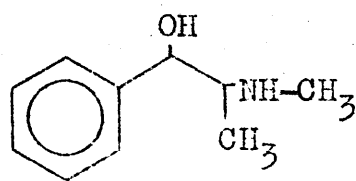
Los inhibidores reversibles se unen a la enzima a través de enlaces débiles, formando complejos que se disocian con facilidad según el esquema siguiente (8):



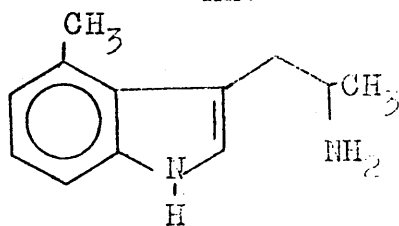
La aplicación de la ley de masas al equilibrio anterior permite calcular el grado de inhibición. Debido a la facilidad de disociación de estos complejos por dilución, es difícil que este tipo de inhibidores alcancen concentraciones suficientemente altas in vivo para producir una inhibición eficaz y por tanto, en general, carecen de valor terapéutico. Los de mayor interés dentro de este grupo son : anfetamina (XXV), efedrina (XXVI), MP-809 (XXVII) y etriptamina (XXVIII)



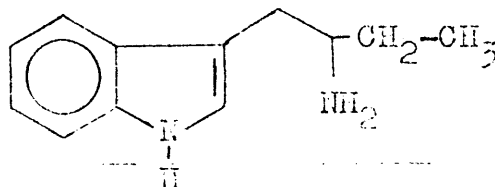
XXV



XXVI



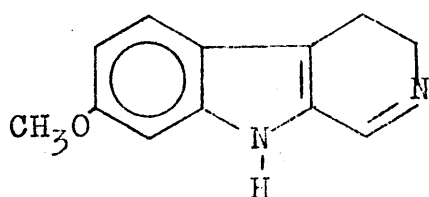
XXVII



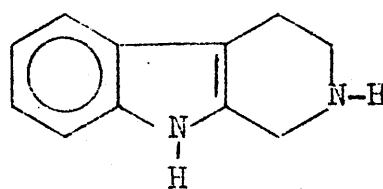
XXVIII

así como ciertos alcaloides derivados de β -carbolinas. Fuentes y Longo (9) recientemente han estudiado los efectos centrales de siete compuestos relacionados con β -carbolinas en ratas y conejos, mediante la implantación de electrodos en diversas áreas corticales y subcorticales. Los compuestos estudiados son los siguientes : harmalina (XXIX), tetrahydroharmano (XXX), harmano (XXXIa), harmol XXXIb), 3-metilharmano (XXXIc), norharmano (XXXId) y harmina (XXXIe). Han encontrado que, excepto harmina y harmalina, producen un síndrome de presivo que puede extenderse a parálisis total en la rata. En conejo, el L-dopa antagoniza el temblor y los síntomas tóxicos causados por harmina y harmalina. El hecho de que produzcan un síndrome depresivo es debido a que su acción sobre el sistema nervioso central es compleja y no se puede explicar simplemente por la inhibición de MAO.

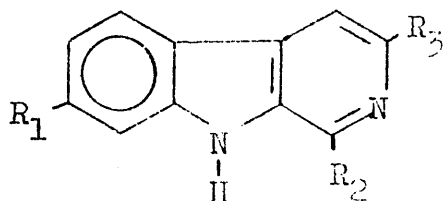
El poder de inhibición de los derivados de β -carbolinas, según Millé y colaboradores, se debe probablemente a



XXIX



XXX



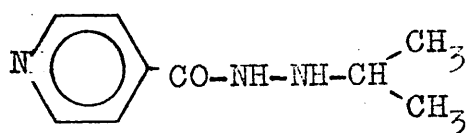
XXXI

- a) $R_1=R_3=H$, $R_2=CH_3$
- b) $R_1=CH$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$
- c) $R_1=H$, $R_2=R_3=CH_3$
- d) $R_1=R_2=R_3=H$
- e) $R_1=CH_3O$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$

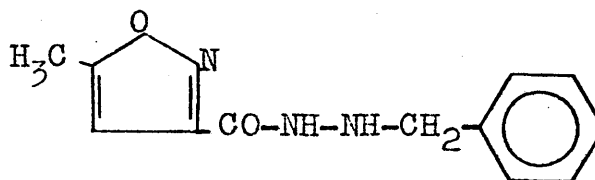
la formación de complejos de transferencia de carga entre el compuesto flavínico de la enzima y el derivado indólico. Mc Issac y Estevez han comprobado que al reemplazar el N-2 de las β -carbolinas por CH se anula completamente la actividad inhibidora de MAO.

Los inhibidores irreversibles presentan un mayor interés, ya que se unen a la enzima mediante enlaces estables y el complejo EI no se disocia. Sólo se requieren cantidades estequiométricas de inhibidor para una inhibición enzimática total, por lo que son óptimos para actuar in vivo. Este tipo de inhibidores se puede clasificar en dos grupos: hidracínicos (10) y no hidracínicos (11). El primer grupo comprende hidracidas, hidracinas, semicarbazidas, tiosemicarbazidas e hidracidas del ácido sulfónico.

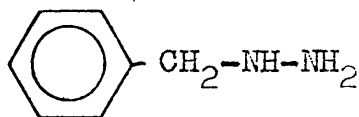
La iproniazida (XXXII) fue el primer inhibidor de MAO encontrado al observarse que su administración producía una estimulación psíquica en el paciente, encontrándose que era activo tanto in vitro como in vivo. Otros inhibidores de este grupo que presentan gran interés son: isocarboxacida (XXXIII), bencilhidracina (XXXIV) y tersavíd (XXXV).



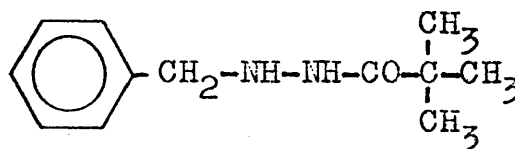
XXXII



XXXIII



XXXIV



XXXV

Entre los inhibidores de MAO no hidracínicos se encuentran las arilciclopropilaminas, siendo la más característica del grupo la trans-2-fenilciclopropilamina, algunos derivados de pirazina como la 2-metil-3-piperidino pirazina y las propargilaminas, y por su relación con los compuestos que estudiamos expondremos con más detalle el mecanismo de inhibición así como las características estructurales de compuestos relacionados (12).

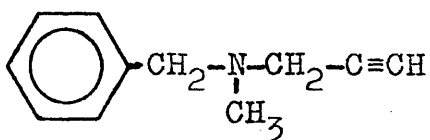
La naturaleza covalente del enlace de pargilina --- (XXXVI) a la enzima monoaminooxidasa, ha sido ampliamente estudiado tanto in vitro como in vivo, así como el carácter irreversible de este enlace. El mecanismo de inhibición de la enzima por pargilina es tipo mixto entre competitivo y no competitivo.

Belleau y Moran suponen que la pargilina puede reaccionar con los grupos sulfhidrilo del centro activo, sin embargo Vina y colaboradores encontraron que a pesar de que la enzima era totalmente inhibida por pargilina durante el período de preincubación, el contenido de los grupos sulfhidrilo era el mismo que cuando la preincubación de la enzima se hacía en ausencia de inhibidor.

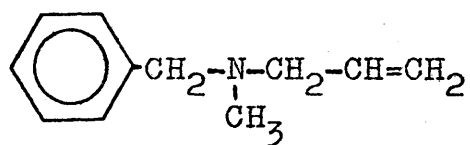
Se tiene evidencia que cuando el sustrato es tiramina, la interacción de pargilina con MAO tiene lugar a través de iones metálicos del centro activo. Sin embargo no ocurre lo mismo cuando el sustrato es serotonina.

También se ha sugerido como posible la participación del sistema de isoaloxacina del FAD, que la enzima tiene como grupo prostético, en la interacción de estos compuestos con la enzima formando complejos de transferencia de carga. Esto tiene un particular interés en nuestro caso debido a la reconocida capacidad de los derivados indólicos para formar complejos de transferencia de carga con flavinas.

Han sido numerosas las modificaciones introducidas en la pargilina, sin embargo todos los compuestos han resultado con una actividad inhibidora menor. Así se ha reemplazado el triple enlace por doble enlace, siendo el alqueno resultante (XXXVII) unas 2.000 veces menos inhibidor in vitro y también presentaba menos actividad in vivo. Los dos deri-

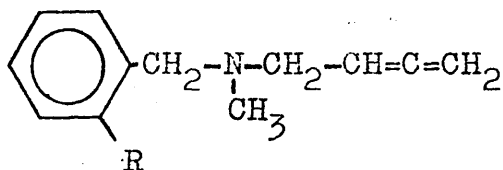


XXXVI



XXXVII

vados alénicos (XXXVIIIa) y (XXXVIIIb) fueron 25 y 5 veces,



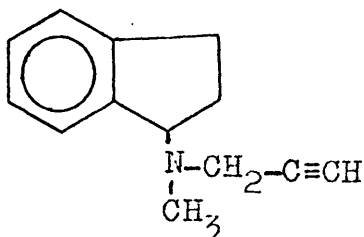
XXXVIII

a) R=H

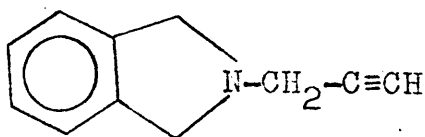
b) R=Cl

respectivamente, menos activos que la pargilina.

También se han ensayado pargilinas isoindólicas como (XXXIX) y derivados de indanamina como (XL) siendo el segundo de ellos más potente inhibidor que la pargilina y el primero equivalente in vitro.



XL



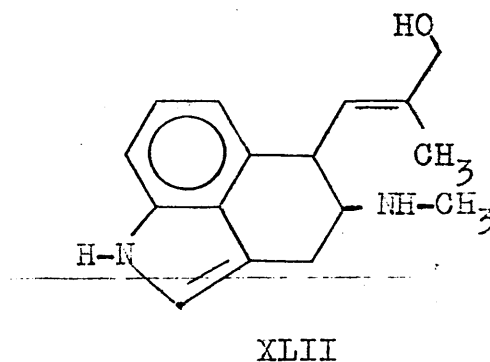
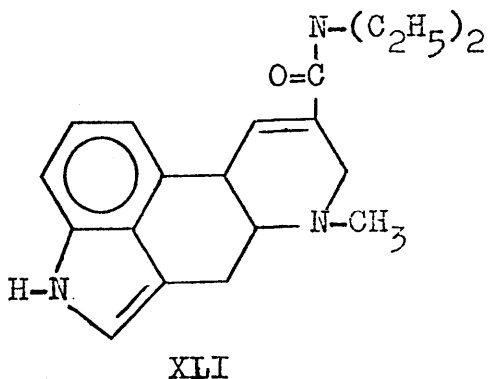
XXXIX

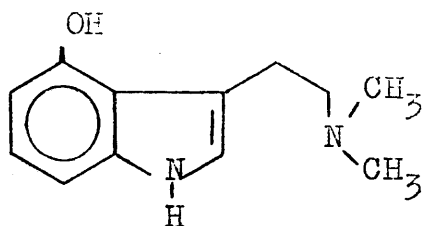
PROPIEDADES PSICOFARMACOLOGICAS DE LOS COMPUESTOS INDOLICOS.

La influencia de los cambios en la concentración de monoaminas en el cerebro, así como el conocimiento de sustancias que pueden producir estados similares a los observados en psicosis endógenas, conduce a especular sobre el papel de las amins biógenas en la etiología de estas distorsiones mentales, psicosis maniacas depresivas y esquizofrenias.

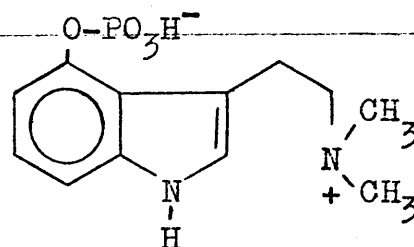
Entre las drogas que pueden producir estados modelo de este tipo, el grupo que ofrece más interés farmacológico y médico es el de los alucinógenos y psicomiméticos. Casi todas estas sustancias son de origen vegetal y eran ya empleadas en las ceremonias religiosas de civilizaciones antiguas, como la azteca. La primera conocida de origen semisintético, obtenida por Hofman en 1938, es la dietilamida del ácido lisérgico (LSD-25) (XLI), de la que bastan dosis de 0,001 mg. para producir en el hombre síntomas que pueden ser considerados como una forma de esquizofrenia.

El número de alucinógenos conocidos en la actualidad es muy grande, como son, además de los derivados del ácido lisérgico (lisergamida, isolisergamida etc.), psilocina (XLIII), y psilocibina (XLIV), bufotenina (XV), dimetiltryptamina (XLV) canoclavina (XLII) etc.

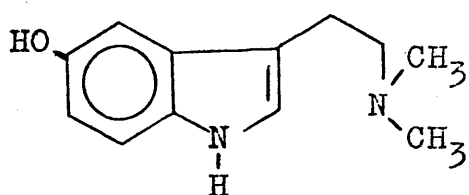




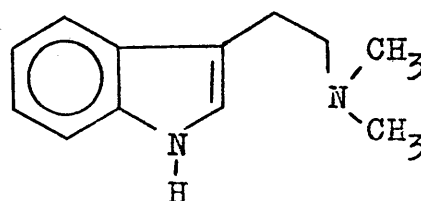
XLIII



XLIV

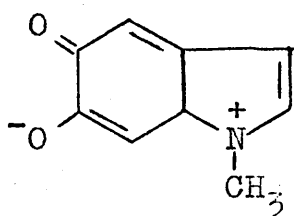


XV

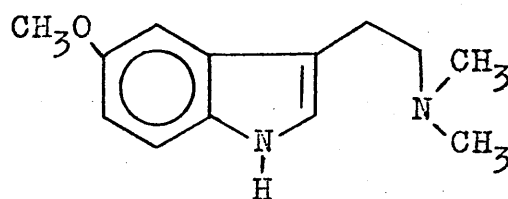


XLV

Algunos autores han considerado como psicotóxicas en dógenas, responsables de algunos transtornos mentales, a algunos derivados indólicos como el adrenocromo (XLVI), la 5-metoxi-N,N-dimetiltriptamina (XLVII) y otros hidroxí- ó alcóxí-triptaminas.



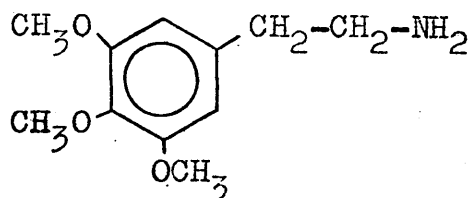
XLVI



XLVII

Ciertamente no todos los tipos de sustancias alucinógenas y psicotomiméticas conocidas son derivados indólicos. No obstante, como muestra el breve comentario anterior, no sólo los derivados indólicos naturales o de síntesis constituyen quizás el grupo más importante, sino que el comportamiento como tales de algunos de estos compuestos, se explica

frecuentemente sobre la base de ser precursores de indoles. Así, la acción alucinógena de la mescalina (XLVIII), se supone puede resultar de su ciclación oxidativa in vivo a un



XLVIII

derivado indólico relacionado con el adrenocromo.

Según lo anteriormente expuesto, parece tener gran importancia el núcleo indólico en la bioquímica de las funciones psíquicas, lo cual viene apoyado por el hecho de que ciertos alcaloides de Rauwolfia, que incluyen también el núcleo indólico como la reserpina y la deserpina, poseen también propiedades psicótropas, aunque de naturaleza distinta a las anteriores, ya que son sedantes. La reserpina interfiere, en efecto, el mecanismo de acumulación de serotonina y catecolaminas, impidiéndolo, por lo que hace a las aminas asequibles a la destrucción por MAO. Como consecuencia, se produce un descenso en el nivel normal de dichas aminas, y de ahí su acción sedativa e hipotensora. Este mecanismo viene apoyado por el hecho de que la administración simultánea de reserpina y un inhibidor de MAO produce el efecto contrario, es decir, de excitación y estímulo.

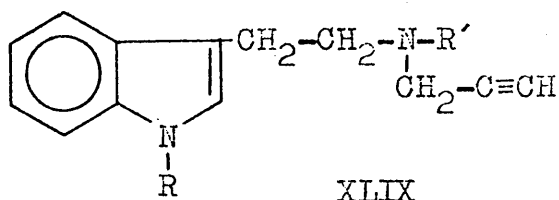
El hecho de encontrar entre los derivados indólicos desde tranquilizantes a potentes alucinógenos, sugiere una facilidad particular para atravesar la barrera sangre-cerebro de este tipo de estructuras. Todos estos hechos demuestran el gran interés que tienen los derivados indólicos como agentes psicotrópicos.

PLAN DE TRABAJO

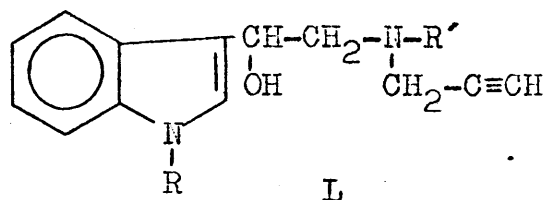
Nuestro trabajo se ha desarrollado en un equipo de investigación dedicado al estudio de inhibidores irreversibles de la enzima monoaminooxidasa en busca de productos como agentes antidepresivos potenciales, que no presenten toxicidad hepática ni efectos secundarios, que han sido las causas que hasta la actualidad han limitado la aplicación en clínica, como psicoestimulantes o antidepresivos o como hipertensores, de los inhibidores de MAO conocidos.

Según lo expuesto en páginas anteriores, una posible vía para conseguir este objetivo, sería la asociación de agrupamientos con capacidad reconocida para la inhibición irreversible de MAO (hidracinas, ciclopropilaminas, propinilaminas) con sistemas con potencialidad psicotrópica, tal como el sistema indólico.

En trabajos anteriores se ha estudiado la asociación de indol e hidracina, en forma de indolalquilhidracinas e hidracidas de ácidos indólicos. Recientemente se ha iniciado el estudio de derivados indólicos de propinilamina y, como continuación de estos trabajos, nos propusimos la síntesis y ensayo in vitro como inhibidores de monoaminooxidasa de los compuestos referibles a las fórmulas generales siguientes (L) y (XLIX):



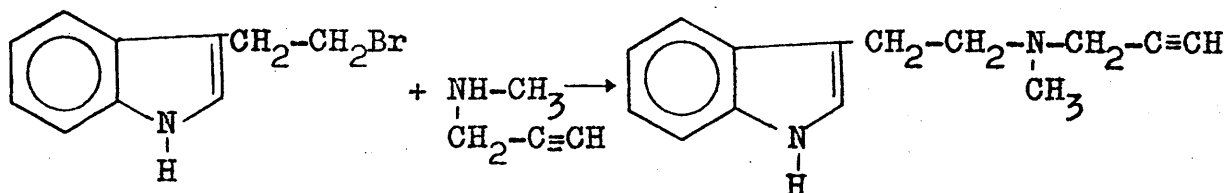
R = H, Me y Bz
R' = Me, Et, iso-Pr y Bz



R = Me y Bz
R' = Me, Et, iso-Pr y Bz

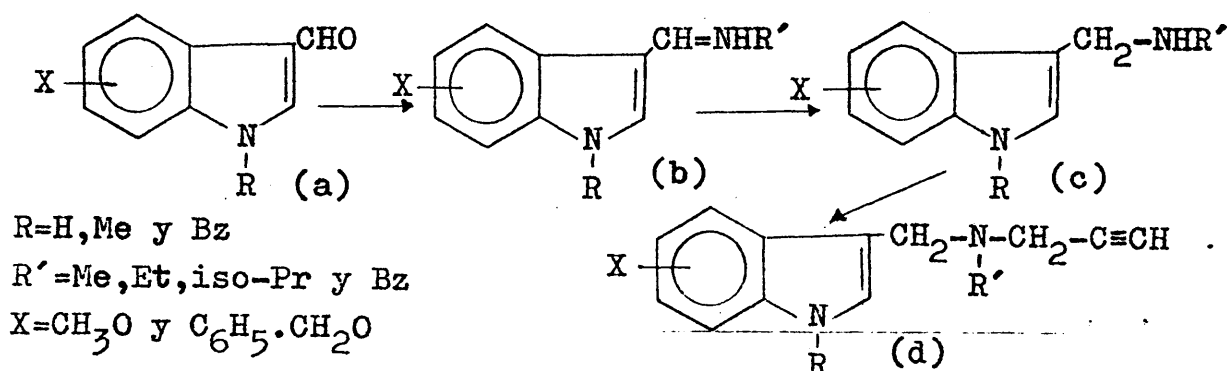
en las que se asocia el sistema indólico con el grupo propargilo, a través de una cadena de etilamina similar a la que se presenta en la serotonina y otras 3-indoliletilaminas y en la feniletilamina y catecolaminas derivadas de ella.

Una revisión bibliográfica realizada al iniciar nuestro trabajo nos indicó que ninguno de los compuestos cuya preparación programamos ha sido descrito. No obstante, cuando ya se encontraba practicamente ultimado nuestro trabajo de síntesis apareció una patente registrada en EE.UU. en la que se prepara 3-[2-[N-metil-N-(2-propinil)] aminoetil] indol (XLIX, R=H, R=Me) (61) y se describe como inhibidor de MAO. La preparación se realiza según el esquema siguiente:



es decir por una ruta diferente a la utilizada por nosotros.

Por otra parte, en un trabajo en curso en nuestro laboratorio (29) se está llevando a cabo la preparación y estudio como inhibidores de MAO de una serie de compuestos de fórmula general (d), análogos estructurales de los compuestos estudiados por nosotros. La secuencia de reacciones a través de las cuales se obtienen estos productos es la siguiente:



como discutiremos más adelante, este esquema de síntesis, aparentemente aplicable a nuestro caso, hubo de ser descartado.

PARTE II

SINTESIS DE PROPINILAMINAS INDOLICAS:

3-[2-[N-alquil-N-(2-propinil)] aminoetil] indoles

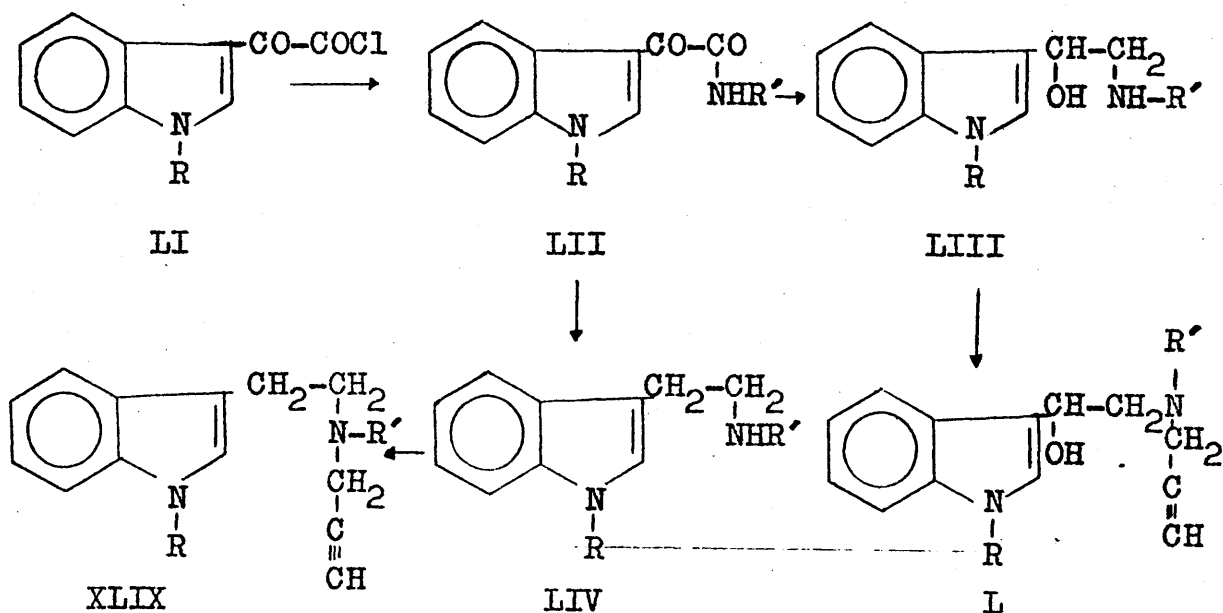
SINTESIS DE PROPINILAMINAS INDOLICAS

El objetivo del presente apartado es la discusión de los posibles caminos de síntesis de los compuestos, así como la elección de la ruta a seguir y selección de los métodos más adecuados. También daremos aquí los resultados de los ensayos previos que nos orientaron en la selección.

En un primer apartado haremos la discusión de los caminos de síntesis y en los siguientes apartados estudiaremos cada paso del procedimiento elegido.

a).- Caminos de síntesis de los compuestos de fórmulas generales (XLIX) y (L): El problema que se presenta es obtener aminas terciarias mediante la introducción ordenada y selectiva, de radicales en el átomo de nitrógeno, orden de introducción y método, evitando tediosas separaciones.

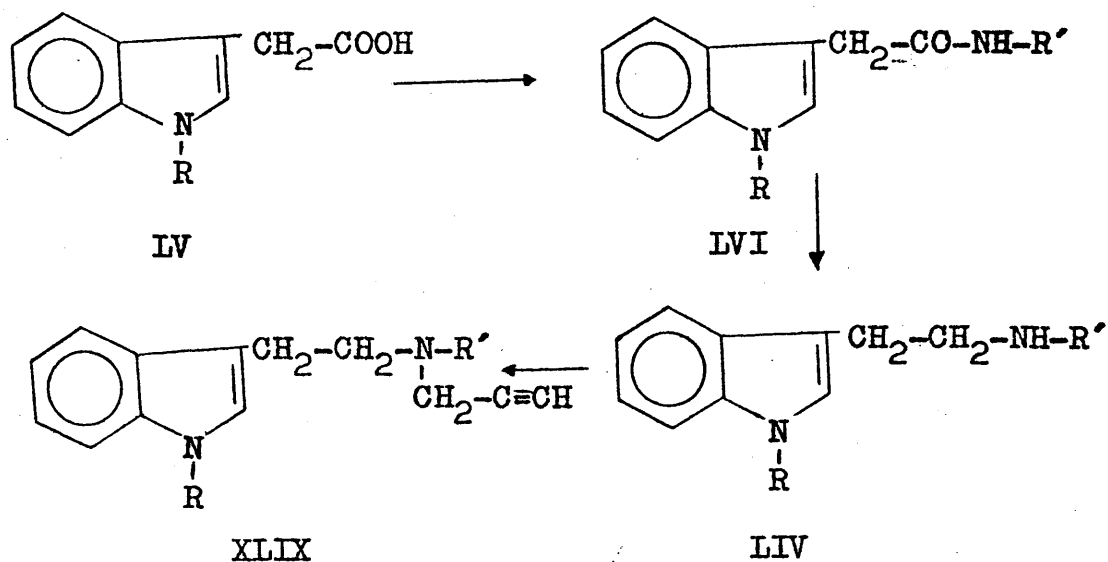
Los esquemas que nos propusimos en principio son los siguientes:



(LIV) R = H

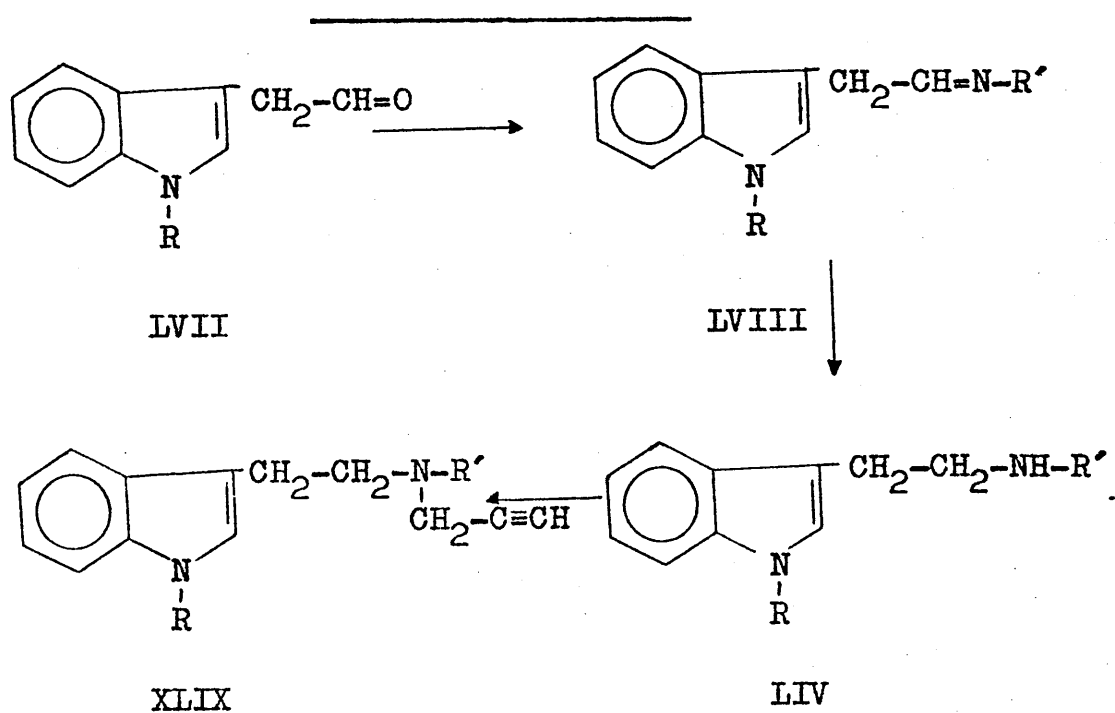
(LIII) R = Me y Bz

ESQUEMA I

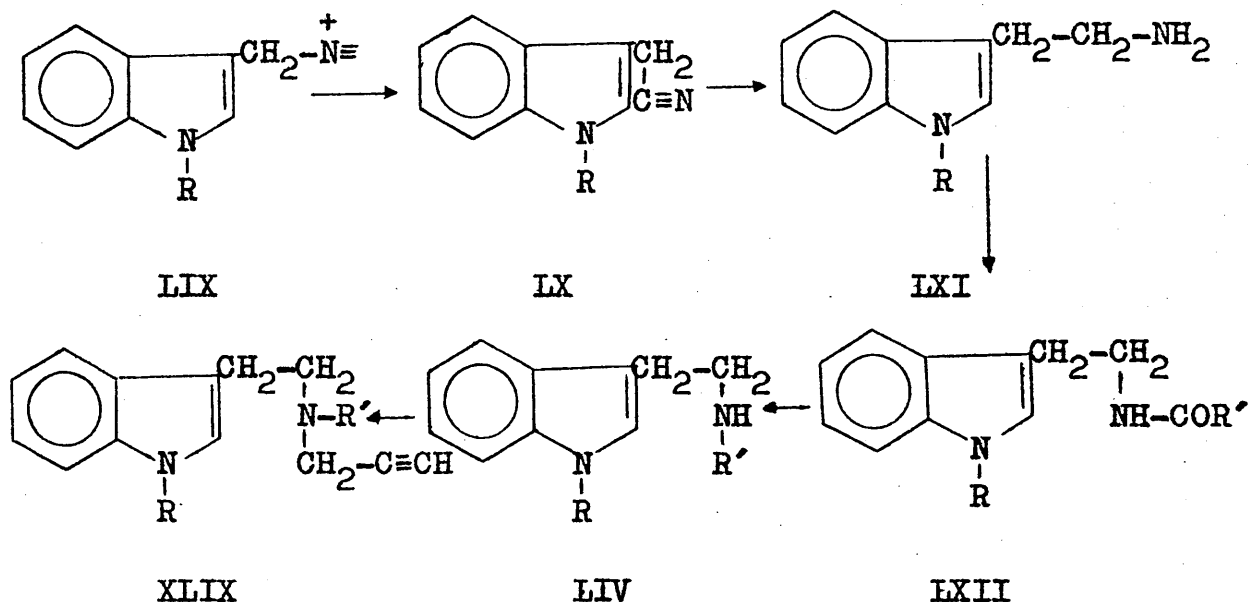


R = Me y Bz

ESQUEMA II



ESQUEMA III



ESQUEMA IV

El esquema III pronto fue descartado, pues si bien son muy utilizados los indol-3-aldehidos por su facil preparación mediante formilación directa de indoles con dimetilformamida y oxiclóruo de fósforo, no ocurre lo mismo con el indol-3-acetaldehido cuya preparación es más larga y tediosa.

Una revisión bibliográfica de los métodos usados para la síntesis de N-alquiltriptaminas nos condujo a la selección de los esquemas I y II, según los casos, y por lo tanto a descartar también el esquema IV, que por otra parte implicaría un mayor número de pasos de síntesis.

b).- A continuación estudiaremos detalladamente los pasos correspondientes al esquema I:

ALQUILACION DEL INDOL.

En general la metilación y bencilación del indol no sustituido en el núcleo, se hace a partir del derivado sódico del indol con ioduro de metilo o cloruro de bencilo, respectivamente, en amoniaco líquido, según hemos podido comprobar mediante un estudio bibliográfico al respecto.

En nuestro caso y para la metilación del indol se ha seguido el método descrito en el Org. Syn. (13), utilizando sódio en amoniaco líquido en lugar de amiduro sódico. Se observó que en esta primera reacción la metilación del indol no fue total por lo que siempre hubo que repetir el mismo procedimiento, utilizando como producto de partida el parcialmente metilado en lugar de indol, con lo que conseguimos rendimientos del 95%. La separación del indol del producto metilado se hizo en columna de rectificación ya que los puntos de ebullición de los dos productos están muy próximos.

El 1-bencilindol se ha preparado según el método de Hans Plieninger (14) y se ha conseguido mejorar el rendimiento utilizando sódio metálico en amoniaco líquido en lugar de amiduro sódico comercial.

SINTESIS DE AMINAS SECUNDARIAS.

En 1924 Giua fue el primero en estudiar la acción del cloruro de oxalilo sobre diversos heterocícllos, incluido el indol, creyendo, en este caso, haber obtenido el cloruro del ácido indol-2-glioxílico. Posteriormente Speeter y Anthony (15) identificaron el compuesto obtenido por Giua como cloruro del ácido indol-3-glioxílico y lo transformaron en triptaminas haciendolo reaccionar con alquilaminas y posterior reducción de las amidas formadas con hidruro de litio y

aluminio.

Este método es muy utilizado para la preparación de triptaminas no sustituidas en el átomo de carbono en posición

α . Sin embargo el curso de la reducción con hidruro de litio y aluminio depende de la naturaleza del sustituyente R, así como del disolvente empleado. Cuando R=H (Esquema I pág 25) se obtienen, en general, compuestos de fórmula (LIV), mientras que en indoles sustituidos en el átomo de nitrógeno se obtienen compuestos de fórmula (LIII), como se pudo comprobar en trabajos realizados posteriormente; así por ejemplo, se han preparado compuestos de fórmula (LIII) en los que R'= Me, iso-Pr, Bz y R = Me, empleando tetrahidrofurano como disolvente (16), y posteriormente encontramos compuestos de igual fórmula, preparados por el mismo método siendo R = Me, Et, Bz y R'= terc-Bu, iso-Pr (17). Sin embargo estas reducciones no transcurren siempre en el mismo sentido, dependen de las condiciones de la reacción.

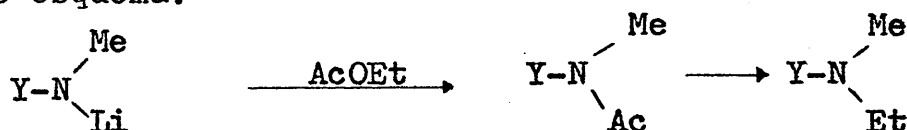
Brutcher y Vanderwerff (18) observan en la preparación de triptamina que si la reducción con hidruro de litio y aluminio se hace en tetrahidrofurano se aísla el 41% de triptamina y el 11% de hidroxitriptamina, mientras que si se hace en dioxano la reducción a triptamina es prácticamente total.

Por otra parte Buzas, Hoffman y Regnier (19) obtienen triptaminas de fórmula (LIV) en las que R = Me y el átomo de nitrógeno de la cadena lateral disustituido por grupos bencilo, empleando tetrahidrofurano en la reducción, pero no tienen ningun éxito cuando intentan la preparación de compuestos análogos en los que el sustituyente R es un grupo dietil aminoetil.

En la preparación de 4-benciloxitriptaminas Troxler, Seeman y Hofmann (20) obtienen una mezcla de triptaminas cuan-

do cuando el átomo de nitrógeno indólico no está sustituido, al hacer la reducción en tetrahydrofurano, en cambio haciéndola en dioxano aislan triptaminas solamente y cuando los compuestos son metil sustituidos en el átomo de nitrógeno indólico, obtienen hidroxitriptaminas. Siguiendo el estudio de la reducción de glioxilamidas indólicas con hidruro de litio y aluminio, encontramos que el intento realizado por Neumeyer, Moyer y Leonard (21) de reducción de N,N-di(2-propinil) indolil-3-glioxilamidas, en tetrahydrofurano resultó infructuoso.

Otra dificultad que se presenta en la preparación de este tipo de compuestos por el método de Speeter y Anthony es la que observó Stauffer (22) en la preparación de metiltriptamina al aislar, junto a esta, otra amina terciaria con un grupo etilo suplementario, comprobando que la formación de esta última tenía lugar durante la destrucción del exceso de litio y aluminio con acetato de etilo, según el siguiente esquema:



Esta dificultad fue salvada utilizando tetrahydrofurano y agua en la destrucción del exceso de hidruro de litio y aluminio.

A la vista de estos resultados, la síntesis de nuestros productos la hemos llevado a cabo, según el método de Speeter y Anthony, haciendo la reducción de las amidas en un aparato de Soxhlet con éter anhidro como disolvente y empleando tetrahydrofurano y agua para la destrucción del exceso de hidruro de litio y aluminio, según Stauffer.

En el caso de las amidas en que el sustituyente del

nitrógeno indólico es un grupo bencilo, se nos presentó el problema de la poca solubilidad de estos compuestos en éter y por lo tanto la exigencia de tiempos de reducción muy largos. Con el fin de tener tiempos de reducción más cortos y dado que la solubilidad en tetrahidrofurano era mayor, hicimos un ensayo de reducción en este disolvente con N-bencil-3-(1-bencilindolil)glioxilamida, concretamente. Se obtuvo un aceite del que se intentó aislar la posible amina en forma de oxalato, pero no se consiguió la amina esperada, aislándose en cambio oxalato de bencilamina, lo que demuestra la ruptura de la molécula y por tanto quedó descartada la posibilidad de reducción en este disolvente.

A partir del producto resultante de la reducción, se han aislado y purificado las aminas, unas veces en forma de bases libres y otras como sales.

Las aminas de fórmula (LIV) se han aislado y purificado por destilación a presión reducida del aceite resultante de la reducción. En casos en que el punto de ebullición es muy alto, con el fin de evitar descomposiciones, se han aislado formando la sal directamente, disolviendo el producto de la reducción en un solvente adecuado y añadiendo una solución del ácido correspondiente en el mismo disolvente hasta pH=7 aproximadamente.

Cuando el nitrógeno indólico está sustituido, los productos de la reducción que se obtienen son sólidos o semisólidos, lo que permite aislar las aminas por disgregación con éter y posterior recristalización, en forma de bases libres.

Para estos compuestos no siempre hemos conseguido datos de microanálisis correctos, a pesar de que los espectros en el infrarrojo y de resonancia magnética nuclear concuerdan con las estructuras propuestas. Por sucesivas recristali-

zaciones y con distintos disolventes se obtienen porcentajes de contenido en carbón, nitrógeno e hidrógeno cada vez más altos.

Puesto que estos compuestos han de ser posteriormente ensayados como inhibidores de monoaminooxidasa, se intentó la preparación de sales que sean solubles en agua y que no sean tóxicas. Con este fin se han preparado los hidrobromuros de los compuestos de fórmula (LIV) disolviendo la amina en éter seco y añadiendo una solución etérea de ácido bromhídrico hasta pH=7 aproximadamente.

En compuestos de fórmula (LIII), la preparación de sales presenta gran dificultad. En los intentos realizados para la preparación de los hidrobromuros y de los hidroclo^{ru}ros de los compuestos en que R=Bz, se han obtenido resultados negativos. Aparece siempre un precipitado esponjoso de color claro que se va coloreando progresivamente y acaba transformándose en un producto gomoso de color marrón oscuro, del que a veces, se han conseguido aislar los hidrobromuros e hidroclo^{ru}ros de la alquilamina correspondiente. Todo ello nos hizo pensar en una descomposición de la molécula, la cual estaría favorecida por la temperatura, por lo que se decidió hacer un nuevo intento de preparación a bajas temperaturas. Concretamente se intentó preparar el hidrobromuro de 3-(1-hidroxⁱ-2-bencilaminoetil)1-bencilindol a -70°C, observándose la aparición de un precipitado blanco que, al llevarlo a temperatura ambiente, se coloreó y se transformó en un producto gomoso intratable de color marrón oscuro.

Por otra parte, la preparación de oxalatos y maleatos ha tenido éxito. La preparación se hace de una manera análoga a la de las sales anteriores, disolviendo la amina en éter y añadiendo una solución etérea de ácido oxálico hasta neutralidad. Aparecían siempre precipitados muy higroscópicos,

que filtrados inmediatamente, abandonados en un desecador con anhídrido fosfórico durante algún tiempo y recristalizados seguidamente permitían obtener productos estables.

Sin embargo, la inestabilidad de estos compuestos al calor se puso de manifiesto al intentar recristalizar el oxalato de 3-(1-hidroxi-2-metilaminoetil)1-bencilindol de nitro metano, observandose una ruptura de la molécula y la formación de oxalato de metilamina.

Para los compuestos en que $R=Me$, se han conseguido preparar los correspondientes hidrobromuros, aunque con rendimientos muy bajos, excepto para el compuesto en que $R'=Bz$ en cuyo caso lo que se obtuvo fue hidrobromuro de bencilamina. Se observa, igual que en los casos anteriores, la formación de precipitados blancos que se colorean progresivamente hasta hacerse casi negros, siendo todos ellos muy higroscópicos, pero abandonados en un desecador con anhídrido fosfórico y recristalizados seguidamente, dejan de serlo. En cambio la preparación de oxalatos no presentó dificultad y se consiguieron buenos rendimientos.

Para algunas sales de los compuestos de esta serie no se han conseguido microanálisis correctos a pesar de que los datos de espectroscopía infrarroja y de resonancia magnética nuclear concuerdan con las estructuras propuestas. Análogamente a como ocurría con las bases libres, se obtienen porcentajes de contenido en carbono, nitrógeno e hidrógeno cada vez más altos por sucesivas recristalizaciones.

c).- A continuación pasamos a discutir el Esquema II.

SINTESIS DE LOS ACIDOS 1-METIL Y 1-BENCILINDOLIL-3-ACETICO.

Una revisión bibliográfica de los métodos seguidos

para la preparación de compuestos de este tipo, nos orientó en la elección del camino a seguir.

En principio tomamos dos métodos como posibles:

- 1.- Por aplicación de la reacción de Mannich a 1-metilindol Snyder y Eliel (23) obtienen metilgramina, que por reacción con ioduro de metilo da la sal de amonio, la cual reacciona con cianuro potásico acuoso para dar dos isómeros: 1-metilindol-3-acetonitrilo y 2-ciano-1:3-dimetilindol, separables por destilación. Una posterior hidrólisis de 1-metilindol-3-acetonitrilo conduce al ácido 1-metilindol-3-acético.
- 2.- Badger, Christie, Rodda y Pryke (24) prepararon el éster etílico del ácido 1-metilindol-3-acético haciendo reaccionar 1-metilindol con diazoacetato de etilo en relación mol a mol. La reacción dura cuatro horas y la temperatura se mantiene a 140°C. Por destilación a vacío se obtiene el 1-metilindol-3-acetato de etilo, cuya hidrólisis da el ácido 1-metilindol-3-acético.

En nuestro caso hemos seguido el método 2, ya que el número de pasos en la síntesis es menor y por otra parte nos evitamos la separación de isómeros. La preparación de 1-metilindol-3-acetato de etilo se ha hecho según la descripción anterior, sin embargo la preparación de 1-bencilindol-3-acetato de etilo se ha hecho a partir de un mol de 1-bencilindol y dos moles de diazoacetato de etilo. En este caso el tiempo de reacción necesario es mayor y los rendimientos más bajos.

Con el fin de evitar las descomposiciones que de hecho tienen lugar durante las destilaciones a presión reducida para separar los ésteres, intentamos la obtención de los ácidos por hidrólisis directa de los productos de reacción, pero los resultados fueron muy malos, por lo que hubo que recurrir a la destilación a presión reducida previa a la hidrólisis.

SINTESIS DE AMINAS SECUNDARIAS

La preparación de las amidas (Esquema II, pag. 26) se pensó hacer via cloruro de ácido. Para ello intentamos preparar los cloruros de los ácidos 1-metil y 1-bencilindolil-3-acético de una manera análoga a como Weller y Sell (25) y Shaw, Mc.Millan, Gudmundson y Armstrong (26) preparan el cloruro del ácido indolil-3-acético, pero nunca conseguimos aislar el cloruro y recuperabamos siempre el ácido de partida. A la vista de estos resultados la preparación de acetamidas la hemos hecho por el siguiente procedimiento:

A una solución del ácido correspondiente en éter anhidro se añade pentacloruro de fósforo a 0°C y bajo agitación. La mezcla se abandona a temperatura ambiente y con agitación durante la noche y a continuación se añade la correspondiente amina en solución acuosa.

También se hizo la preparación de N-bencil-3-(1-metilindolil)acetamida según Katritzky (27) por reacción del éster con bencilamina a 140°C. En nuestro caso este método no sería utilizable para la preparación del resto de las amidas ya que las alquilaminas empleadas son gaseosas o de bajos puntos de ebullición. Por otra parte con el método anterior conseguimos mejores rendimientos.

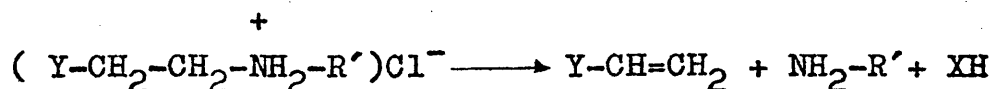
A partir de las amidas se obtienen las aminas secundarias correspondientes por reducción con hidruro de litio y aluminio, empleando tetrahidrofurano como disolvente. La descomposición del exceso de hidruro de litio y aluminio se hace con hidróxido sódico al 10% en agua.

Estos compuestos se han aislado y purificado en forma de oxalatos, preparados por disolución en éter anhidro del producto bruto resultante de la reducción y posterior adición de una solución etérea de ácido oxálico, hasta neutralidad.

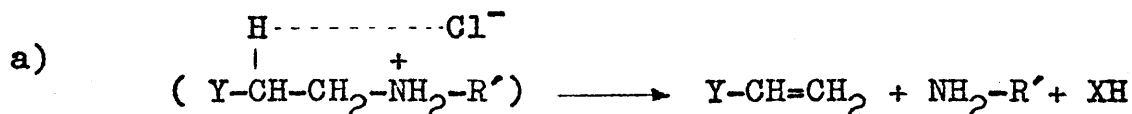
Con el fin de conseguir sales solubles en agua y no

toxicas para posteriores ensayos in vivo de estos compuestos como inhibidores de MAO, se intentó la preparación de hidrocloruros. En un ensayo previo realizado para 3-(2-bencilaminoetil) 1-metilindol se observó la aparición de un precipitado higroscópico que después de recristalizado de acetonitrilo se identificó como hidrocloruro de bencilamina. Lo que demuestra que tambien estos compuestos, al intentar preparar sales, la molécula sufre una ruptura.

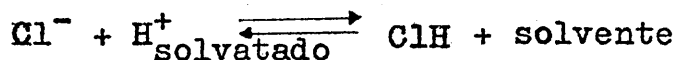
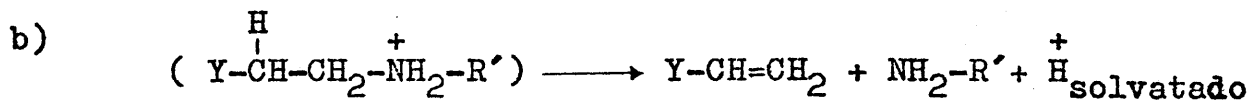
Después de estudiar el trabajo de Hughes, Ingold y Patel (28) sobre la descomposición de sales de amonio cuaternario, se pensó que en nuestro caso, esta descomposición:



podía seguir dos mecanismos:



Este mecanismo supone una polarización del átomo de hidrógeno en posición β , inducida por la atracción electrónica del polo del amonio y posteriormente el protón β es extraído por el anión, según una reacción de eliminación bimolecular (E2).



según una reacción unimolecular (E1).

SINTESIS DE AMINAS TERCIARIAS

Estas aminos se pueden obtener por reacción de la amina secundaria con bromuro de propargilo en ausencia o en presencia de una base insoluble, como carbonato potásico anhidro. Este método se ha empleado para numerosas pargilinas no indólicas inhibidoras de MAO y conducen a mezclas de amina terciaria y sal de amonio cuaternaria.

En nuestro caso se pensó en preparar las propinilaminas por adición del bromuro de propargilo sobre la amina secundaria y en presencia de terc-butilamina para evitar la formación de especies con el nitrógeno cargado positivamente que como hemos visto anteriormente (vease páginas 32 y 36) dan lugar a descomposiciones en la molécula y que por otra parte ya había sido empleada en la preparación de compuestos análogos realizada en nuestro laboratorio (29) dando buenos resultados. La preparación se llevó a cabo según el siguiente método:

A una suspensión de m moles de sal de amina secundaria en benceno seco, se añaden 2m moles, más un ligero exceso (10%), de terc-butilamina, y se agita. La terc-butilamina, más básica que la amina secundaria, libera a ésta de su sal, cristalizando en el matraz de reacción m moles de sal de terc-butilamina. Se filtra y a la solución se añaden m moles de bromuro de propargilo y se deja en reposo. Lentamente se forman cristales de hidrobromuro de terc-butilamina. La reacción se sigue por cromatografía en capa fina. Una vez terminada la reacción se filtra y se evapora el disolvente a vacío.

En cromatografía se observan en general cuatro manchas. La más intensa y de mayor R_f corresponde a la amina terciaria. Otra más débil, que coincide con el control, corresponde a la amina secundaria y las otras dos a productos secundarios de la reacción. El producto se purifica y aísla por

por cromatografía en capa preparativa.

Se intentó la preparación de hidroccloruros y de hidrobromuros, habiendo tenido éxito solamente en algunos casos. Detallamos a continuación los resultados obtenidos en la preparación de sales de aminas terciarias.

En compuestos de fórmula (XLIX) ($R=H$) (Esquema I pag. 25) se han conseguido preparar hidrobromuros, aunque con gran dificultad, ya que estas sales son muy higroscópicas y su recristalización presenta dificultades. Solamente en un caso ($R=iso-Pr$) no se consiguió obtener el hidrobromuro pero en cambio se preparó el maleato. Estos compuestos fueron previamente aislados y purificados en forma de picratos, excepto el compuesto correspondiente a $R'=Bz$ para el cual no fue posible obtener esta sal.

Los resultados obtenidos en los intentos de preparación de sales de los compuestos de fórmula (L) (Esquema I pag. 25) fueron siempre negativos. Se obtuvieron productos gomosos de los que, en algunos casos, se consiguieron aislar sales de alquilpropinilaminas. Lo cual indica una descomposición análoga a la que tenía lugar con las aminas secundarias correspondientes (vease pág. 32), con la diferencia de que allí se consiguieron preparar oxalatos, maleatos, y a veces hidrobromuros. En este caso las sales ensayadas han sido numerosas: hidroccloruros, hidrobromuros, oxalatos, maleatos, fumaratos, percloratos etc., y siempre sin éxito.

Para los compuestos de fórmula (XLIX) ($R=Me$ y Bz) (Esquema II pag. 26) se han preparado oxalatos con relativa facilidad.

DISCUSION DE LOS ESPECTROS INFRARROJOS Y DE LOS DE
RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

DISCUSION DE LOS ESPECTROS INFRARROJOS

Los espectros de absorción en el infrarrojo, junto con los correspondientes espectros de resonancia magnética nuclear, han sido los datos más valiosos utilizados para la caracterización de los compuestos sintetizados en el presente trabajo.

Al estudiar los espectros en el infrarrojo (IR) nos hemos fijado preferentemente en la región N-H y en la región C=O y COOH; apoyándonos en los trabajos realizados por Millich y Becker (30) que han estudiado espectros IR de compuestos indólicos sustituidos en el núcleo pirrólico, y observaron que las bandas correspondientes a las funciones N-H indólico y C=O y COOH de los sustituyentes aparecían, respectivamente en los intervalos de frecuencias 3200-3400 y 1610-1780 cm^{-1} .

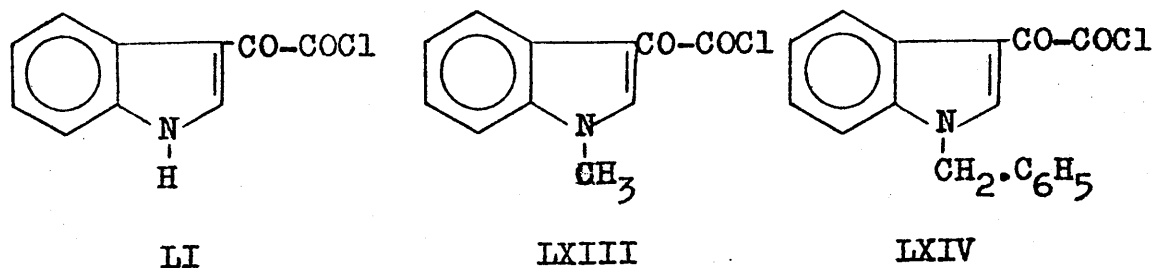
Las restantes regiones del espectro las hemos estudiado comparando el conjunto de todos ellos.

REGION N-H

Ballantine (31) fue el primero en observar en los espectros IR de compuestos indólicos que la frecuencia de la banda N-H se afecta por la electronegatividad de los sustituyentes que se introducen en el sistema. Así, con grupos que atraen electrones, la banda de tensión N-H se desplaza a frecuencias menores que las correspondientes al indol, teniendo un efecto más acusado los sustituyentes en la posición 3 que los de la posición 2. Posteriormente Millich y Becker (30) llegaron a la misma conclusión.

Estudiando los espectros IR de nuestros productos bajo este punto de vista, hemos comprobado que la banda de tensión

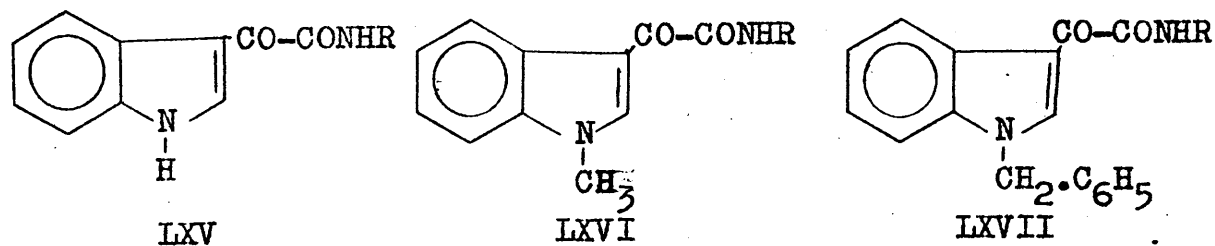
si3n N-H que en le indol aparece a 3390 cm^{-1} (en Nujol) se desplaza a 3220 cm^{-1} para el cloruro del 3-glio xílico (LI). Este corrimiento de frecuencias est3 de acuerdo



con lo que Ballantine observa en sus compuestos, por haber in troducido en el sistema del indol el grupo CO-COCl captador de electrones.

La frecuencia que Millich y Becker (30) dan para la banda de tensi3n N-H en el compuesto (LI) es 3236 cm^{-1} . Cuando se sustituye el H ind3lico del compuesto (LI) por grupos metilo y bencilo para dar los compuestos de f3rmulas (LXIII) y (LXIV) desaparecen las bandas de absorci3n en la zona $3144\text{--}3425\text{ cm}^{-1}$. Litt (32) habia ya hecho esta observaci3n comparan do bis(1-metil-2-pirril)glio xal que no tiene banda en la zona $3300\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ con bis(2-pirril)glio xal con absorci3n a 3340 cm^{-1} .

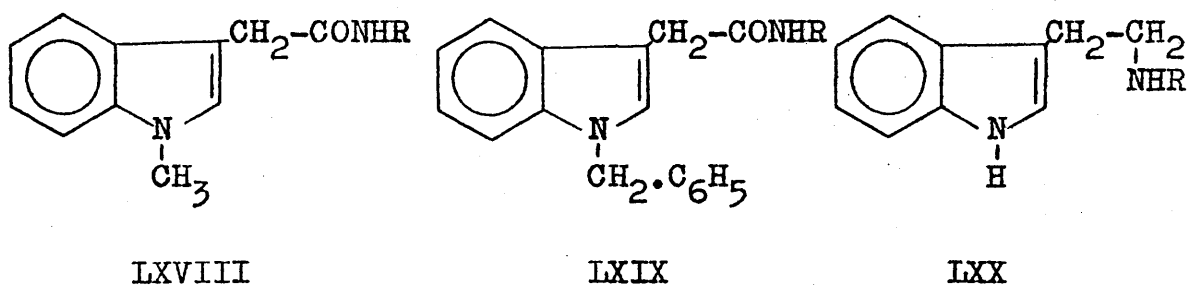
Con compuestos de f3rmula general (LXV), los espectros



IR presentan dos bandas caracteristicas hacia 3367 y 3226 cm^{-1} . La primera corresponde a la vibraci3n de tensi3n del N-H amf- dico y la segunda a vibraci3n de tensi3n N-H ind3lico. Millich

y Becker (30) observaron estas bandas en indolil-3-glioxilamida a las frecuencias de 3427 y 3257 cm^{-1} .

Por otra parte, nosotros hemos observado que esta asignación es correcta, comparando los espectros IR de los compuestos de fórmula (LXV) con los de fórmulas (LXVI) y (LXVII), en los que aparece una banda única a 3367 cm^{-1} , así como en los compuestos de fórmulas generales (LXVIII) y (LXIX), en los



que la banda de tensión aparece hacia 3333 cm^{-1} .

En compuestos de fórmula (LXX) se observa una banda ancha entre 2326 y 3333 cm^{-1} , posiblemente de tensión N-H debida a asociación molecular.

Cuando a partir de estos compuestos se preparan sales, tales como hidrobromuros o picratos, estas muestran bandas de tensión N-H hacia 3390 y 3354 cm^{-1} , respectivamente.

REGION CARBONILICA

En el estudio que hacen Millich y Becker (30) de esta región en compuestos indólicos señalan como característica relevante la pronunciada desviación a bajas frecuencias de la banda de tensión C=O, cuando está conjugada con el núcleo del indol.

La frecuencia de las bandas de tensión C=O y COCl en el compuesto de fórmula (LI), las asignan Millich y Becker a 1629 y 1792 cm^{-1} , respectivamente, registrando los espectros

en estado sólido. Nuestros espectros se registraron en Nujol y hemos asignado a dichas bandas frecuencias de 1783 y 1620 cm^{-1} , respectivamente.

En compuestos de fórmulas (LXV), (LXVI) y (LXVII) se han asignado frecuencias de 1613 cm^{-1} para la banda de vibración de tensión C=O cetónico y de 1667 cm^{-1} para la banda de vibración de tensión C=O amídico. Para este tipo de compuestos, aquellos autores dan frecuencias de 1621 y 1669 cm^{-1} , respectivamente.

En los compuestos de fórmulas (LXVIII) y (LXIX) se ha asignado la frecuencia de 1639 cm^{-1} para la banda de tensión C=O.

Al comparar los espectros de compuestos de fórmulas (LXV), (LXVI) y (LXVII) con los de fórmulas (LXVIII) y (LXIX) se observa que las bandas de tensión C=O en los primeros aparecen a frecuencias más bajas que en los segundos. Este dato confirma la observación hecha por Millich y Becker (30), es decir que cuando el grupo carbonilo no se halla conjugado con núcleo indólico, la banda de tensión de dicho grupo aparece a frecuencias superiores a cuando está unido directamente al núcleo, y por tanto conjugado.

OTRAS BANDAS

Al examinar conjuntamente los espectros de las aminas indólicas secundarias obtenidas se ha encontrado una banda hacia 1626 cm^{-1} , de débil intensidad, que se ha asignado a la flexión de N-H, así como otra banda a 1370 cm^{-1} , de intensidad fuerte, debida a tensión C-N.

Para las aminas terciarias se han encontrado dos bandas características hacia 2128 cm^{-1} , de débil intensidad, que asignamos a tensión C-H en >C=CH .

A partir de las aminas se han preparado sales y al estudiar sus respectivos espectros IR se han encontrado bandas características que apuntamos a continuación:

Hidrobromuros: Dos bandas de vibración de tensión NH_2^+ a $2703\text{--}2778\text{ cm}^{-1}$ y $2410\text{--}2439\text{ cm}^{-1}$, y una banda de flexión NH_2 hacia 1613 cm^{-1} .

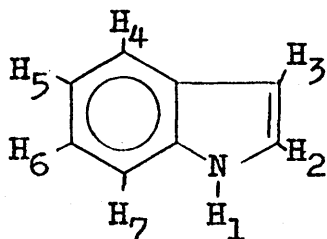
Picratos: Bandas de tensión N-O antisimétrica a $1553\text{--}1587\text{ cm}^{-1}$ y simétrica a $1333\text{--}1351\text{ cm}^{-1}$. Banda de vibración de tensión C-O a 1250 cm^{-1} .

Oxalatos: Bandas de tensión C=O ácido a 1709 cm^{-1} y de anión carboxilato a 1471 y 1370 cm^{-1} .

DISCUSION DE LOS ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

El estudio de los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de los compuestos preparados, complementado con el de los espectros IR, ha hecho posible la caracterización de dichos compuestos. Las asignaciones hechas para cada uno de los protones, se dan en las tablas I a XVII, exponiendo aquí unas consideraciones generales sacadas de dichas tablas.

Se han numerado los protones del núcleo indólico de la forma siguiente, que es la normal en la bibliografía:



Lallemand y Bernath (33) al estudiar el espectro de RMN del indol en CCl₄ como disolvente hacen las siguientes asignaciones para cada uno de los protones:

	H ₂	H ₃	H ₄	H ₅	H ₆	H ₇
τ	3,5	3,7	2,5	3,1	3,1	3,1

Teniendo en cuenta estos valores, hemos estudiado la posición de los distintos protones indólicos en todos y cada uno de los productos sintetizados, fijándonos especialmente en los protones H₂ y H₄. Los protones H₅, H₆ y H₇ del anillo bencénico aparecen como un multiplete complejo, por lo que no ha sido posible hacer asignaciones por separado para los mismos.

Espectros de RMN de amidas

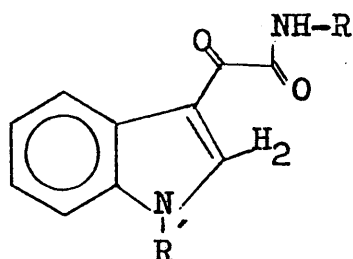
En los espectros RMN de estos compuestos se ha observado un protón aromático que sale sistemáticamente a campo más bajo que los demás protones del sistema indólico, independientemente del sustituyente R y del grupo unido al nitrógeno indólico (H, Me, Bz). Su aspecto es el de un doblete, a 1,05-1,25 τ , empleando dimetilsulfóxido- d_6 como disolvente, para compuestos de fórmula (LXV), que se transforma en un singlete al agitar con agua deuterada.

En los compuestos de fórmulas (LXIII) y (LXIV) se observa un singlete a 1 τ y 0,88-0,90 τ respectivamente siendo el disolvente deuterocloroformo. Lo que nos condujo a asignar esta señal al protón H_2 .

La asignación ha sido confirmada por el hecho ya observado por Lallemand y Bernath, de que el cambio de disolvente puede provocar cambios en el desplazamiento químico del protón H_2 . Así, cuando los espectros de estos compuestos se hacen empleando deuterocloroformo como disolvente el protón H_2 aparece a 0,82 τ , a campo más bajo que cuando se emplea dimetilsulfóxido- d_6 como disolvente (1,05-1,25 τ).

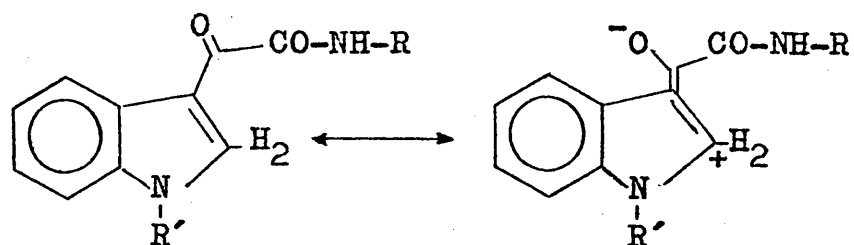
El doblete observado en los compuestos de fórmula (LXV), correspondiente al protón H_2 acoplado con el protón H_1 , con una constante de acoplamiento de 3 cps, no siempre aparece como tal doblete; en algunos casos se ha observado una señal ancha, debido al intercambio del protón H_1 .

Posiblemente, el protón H_2 en estos compuestos se encuentra tan rebajado con respecto a su posición en el indol porque la conjugación de grupos C=O con el anillo determina la estructura plana de la molécula con cuatro conformaciones preferidas, una de las cuales es la indicada en la figura:



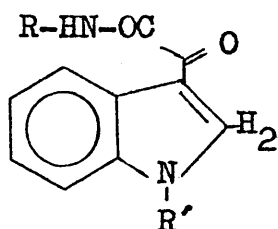
quedando el oxígeno vecino al protón H_2 dentro de un anillo de 6 eslabones y la proximidad del doble enlace $C=O$ desapantallará a dicho protón, rebajando su campo de resonancia con respecto a su posición en el indol.

Otro efecto que puede influir en el mismo sentido, es to es, rebajar el campo de resonancia del protón H_2 , sería la contribución de formas resonantes del tipo:



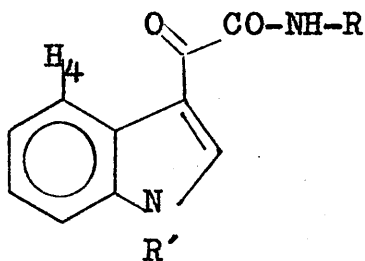
que al crear una carga positiva formal sobre el carbono en la posición 2, rebajan el campo de resonancia del protón que se encuentra sobre dicho átomo de carbono.

También influirá posiblemente en este sentido el efecto de anisotropía creado por la proximidad del oxígeno a dicho protón dentro de un anillo de 5 eslabones, cuando la mo lécula se encuentra en otra de las conformaciones preferidas, estabilizadas por resonancia, y que indicamos en la figura:



Esta asignación concuerda con el hecho de que en los compuestos de fórmulas (LXVIII) y (LXIX) dicha señal se desplaza a campos más altos (2,9-3,0 τ en CDCl_3), ya que por una parte ha desaparecido el grupo C=O unido directamente al núcleo indólico y por otra éste ha sido sustituido por un grupo CH_2 , lo que determina la pérdida de la estructura plana de la molécula y por tanto los posibles efectos anteriormente expuestos, que esta situación llevaba consigo.

En los compuestos de fórmulas (LXV), (LXVI) y (LXVII) se ha observado un protón aromático que resuena a campo muy bajo y que para los compuestos en los que R=H tiene el aspecto de un cuartete en deuterocloroformo a 1,46 τ y que se desplaza a campos más altos en dimetilsulfóxido- d_6 (1,6-1,75 τ). A dicho cuartete podría asignarse constantes de acoplamiento orto de 8 cps y meta de 3,3 cps. Según esto, este protón podría ser H_4 ó H_7 . Sin embargo, la asignación provisional se ha hecho al protón H_4 , basándonos en que en compuestos de este tipo, la conjugación de grupos C=O con el anillo determina la estructura plana de la molécula, con cuatro conformaciones preferidas, en una de las cuales (la indicada en la figura)



queda el oxígeno vecino al protón H_4 dentro de un anillo de 6 eslabones. La proximidad del doble enlace C=O , desapantallará a dicho protón, rebajando el campo de resonancia con respecto a su posición en el indol.

Esta asignación concuerda con el hecho de que en com

puestos de fórmulas (LXVIII) y (LXIX) en los que el grupo C=O unido al núcleo se encuentra sustituido por un CH₂, esta señal se desplaza a campos más altos, (2,40-2,45 τ en CDCl₃), puesto que la molécula ya no puede conservar su estructura plana y por tanto la posibilidad de desapantallamiento que exponíamos anteriormente.

En los compuestos de fórmulas generales, (LXVI) y (LXVII) en los que el nitrógeno indólico está sustituido, esta señal aparece como un multiplete complejo a 1,55-1,60 τ en CDCl₃, en contra de lo que se podía esperar, pues teniendo en cuenta que la distancia entre el multiplete asignado al protón H₄ y el multiplete que comprende los protones H₅, H₆ y H₇ es por término medio 66 Hz deberían verse los desdoblamientos orto y meta del protón H₄, pero los protones H₅, H₆ y H₇ están fuertemente acoplados y por ello no se debe esperar que sea aplicable un tratamiento de primer orden.

Espectros de RMN de aminas

En los compuestos de fórmula (LXX), el protón H₂ se observa en forma de doblete a 3,00 τ en CDCl₃ y al registrar de nuevo el espectro en presencia de una gota de agua deuterada, desaparece dicho doblete, apareciendo en su lugar un singlete, análogo al que se observa en los compuestos del mismo tipo pero sustituidos en el nitrógeno indólico.

Cohen, Daly, Kny y Witkop (34) examinando el espectro de N-metiltriptamina hacen la misma observación siendo 3,12 τ el desplazamiento químico que ellos dan para este protón.

A 2,30-2,31 τ aparece un multiplete, que por analogía con la señal observada a 1,46 τ en los compuestos de fórmulas (LXV), (LXVI) y (LXVII), hemos asignado provisionalmente al protón H₄, y, por otra parte, en el indol, este protón H₄ es

el que sale a campo más bajo.

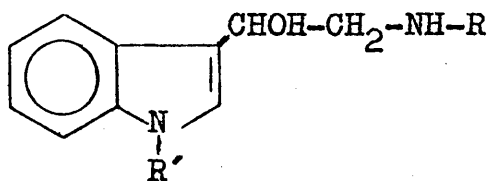
Estos compuestos se han caracterizado también en forma de hidrobromuros, cuyos espectros, por razones de solubilidad, se han realizado en DMSO. Al examinar estos espectros se observa el protón H_4 a 2,68-2,72 τ en forma de un multiplete y en algunos casos como un cuartete con constantes de acoplamiento orto 8 cps y meta 3,3 cps.

Los protones H_2 , H_5 , H_6 y H_7 aparecen en forma de un multiplete complejo a 2,75-2,76 τ y no se han podido hacer asignaciones por separado. Cuando algun sustituyente es un grupo bencilo, el multiplete es aún más complejo y no ha sido posible tampoco hacer asignaciones. Este hecho se hace extensible al resto de los compuestos.

Los compuestos de fórmula (LXX) en que el nitrógeno indólico está sustituido por un grupo metilo o bencilo han sido caracterizados como oxalatos y sus espectros registrados en DMSO. Las asignaciones aquí presentan más dificultad, porque frecuentemente esta región del espectro se encuentra perturbada por la presencia de señales muy anchas correspondientes a protones del grupo amonio. En algunos casos, es observable el protón H_4 en forma de multiplete a 2,40-2,45 τ y el multiplete correspondiente a H_2, H_5, H_6, H_7 hacia 2,75 τ .

En cuanto a las señales correspondientes a protones de la cadena lateral de estas aminas, conviene recordar el caso curioso, ya observado por algunos autores (34) de los cuatro protones de los grupos metilen, en que la diferencia en los desplazamientos químicos se aproxima a cero y el multiplete que debería observarse en estos compuestos, aparece como un singlete a valores de τ comprendidos entre 6,97 y 7,10 en $CDCl_3$ para aminas y entre 6,80 y 6,90 en DMSO para las sales.

Los compuestos de fórmula (LIIII) no presentan ninguna



LIIII

novedad en la región aromática del espectro, ya que es totalmente análoga a la de los espectros de las aminas anteriormente comentados. El protón H_2 se observa 2,90-2,98 τ en forma de singlete. A 2,25-2,35 τ aparece el multiplete correspondiente al protón H_4 y el multiplete que comprende a los protones H_5 , H_6 y H_7 se encuentra a 2,65-2,77 τ .

Sin embargo la región del espectro correspondiente a protones de la cadena lateral es de mayor complejidad: A 6,95-7,40 τ se observa una señal que tiene el aspecto de un singlete y que integra por dos protones, que hemos asignado a \underline{H} -N y \underline{H} -O ya que al repetir el espectro en presencia de agua deuterada desaparece dicha señal.

Una señal en forma de doblete con una constante de acoplamiento de 6 cps a 6,95-7,05 τ y que integra por dos protones ha sido asignada a \underline{H}_2C -CHOH. Asignación que ha sido confirmada al irradiar el protón adyacente \underline{H} -COH y comprobar que desaparecía dicho doblete, apareciendo en su lugar un singlete.

De una manera análoga ha sido asignada la señal que se observa a 4,87-4,95 τ en forma de triplete con constante de acoplamiento de 6 cps al protón \underline{HC} -CH₂, ya que al irradiar los protones CH₂ en lugar de dicho triplete se observa un singlete.

En las aminas terciarias se observan dos señales características del grupo propargilo. Una a 7,75-7,84 τ en CDCl₃ para aminas y a 6,10-6,70 τ en DMSO para las sales correspon-

dientes, en forma de triplete que integra por un protón correspondiente a $\underline{\text{H}}\text{C}\equiv\text{C}$ y otra a 6,46-6,53 τ en CDCl_3 para aminas y a 5,70-6,43 τ en DMSO para las sales correspondientes, en forma de doblete que integra por dos protones y corresponde a $\underline{\text{H}}_2\text{C}-\text{C}\equiv$. La constante de acoplamiento tiene un valor que oscila entre 2,8 y 3,2 cps.

PARTE EXPERIMENTAL

METODOS GENERALES

Los productos comerciales utilizados a lo largo del trabajo procedían de la casa Fluka AG. Buchs SG (Suiza).

Para las cromatografías en capa fina se ha utilizado Kieselgel GF 254 de la casa B. Merck. Las placas se preparon con una papilla obtenida con 25 g. de Kieselgel 254 Merck y 55 ml. de agua, extendiendose por medio de un preparador de placas Shaga y dejándolas secar, primero a temperatura ambiente y después en una estufa a 80°C. Se han revelado con luz ultravioleta de 254 m μ de longitud de onda. Esta técnica cromatográfica se ha utilizado de modo sistemático para seguir, en cada caso, el curso de una reacción; así, por ejemplo, en la reacción de aminas secundarias con bromuro de propargilo, para obtener las respectivas aminas terciarias, en cada caso se empleaba la mezcla de disolventes más adecuada para seguir el curso de la reacción, lo cual se hacía obsevando en función del tiempo la desaparición o atenuación de la mancha correspondiente a la amina secundaria.

Las cromatografías en capa preparativa se realizaron sobre Kieselgel PF 254 Merck. Cada placa se preparó con una papilla obtenida con 25 g. de Kieselgel PF 254 Merck y 55 ml. agua. El secado se hizo en las mismas condiciones que para las cromatografías en capa fina. Se han revelado tambien con luz ultravioleta de 254 m μ de longitud de onda.

Los espectros en el infrarrojo de todos los compuestos se registraron con Nujol en un espectrómetro 137-E Perkin Elmer.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de to dos los productos se han registrado en un aparato R-10 (60 Mc) Perkin Elmer, utilizando tetrametilsilano como referencia interna. Las muestras de 50-60 mg. se utilizaron bien se cas, disolviéndolas en unos 0,5 ml. de disolvente adecuado (CDCl_3 , $\text{DMSO}-d_6$). Las asignaciones hechas para cada uno de los productos se dan en las tablas I a XVI, así como el disolven te empleado en cada caso.

Los puntos de fusión de todos los compuestos se de terminaron en tubo capilar, utilizando un aparato Gallenkamp.

Se han determinado microanálisis para todos los pro ductos, que se dan en la descripción particular de cada uno de ellos.

PREPARACION DE INTERMEDIARIOS

1.- 1-metilindol

Se sigue el método descrito por Pott y Saxton (13), introduciendo algunas modificaciones:

En un matraz de tres bocas, provisto de agitador mecánico, embudo de llave y tubo de cloruro cálcico, se colocaron 1200-1500 ml. de amoníaco líquido y 0,3 g. de nitrato férrico. Bajo fuerte agitación, se añadieron 15 g. (0,66 moles) de sodio metálico limpio, en pequeñas cantidades, y la adición se reguló de modo que se mantenga el color azul de la solución. Cuando la disolución es completa, se añaden lentamente 70,2 g. (0,66 moles) de indol disueltos en 150 ml. de éter anhidro. Pasados 10 minutos, se añaden gota a gota 93,6 g. (0,66 moles) de yoduro de metilo disueltos en igual volumen de éter anhidro. Terminada la adición, se continúa agitando la mezcla durante 15 minutos más, seguidamente se evapora el amoníaco y se añaden 300 ml. de agua y 300 ml. de éter. Se separa, entonces, la capa etérea de la capa acuosa y esta última se extrae con 60 ml. de éter. El extracto etéreo se lava tres veces con 45 ml. de agua cada vez. Por último, se destila el éter, quedando un residuo aceitoso. Mediante el registro y examen del espectro IR se observó que el producto no se había metilado totalmente (presencia de banda NH), por lo que se repite el procedimiento descrito, empleando el residuo aceitoso en vez de indol.

El aceite nuevamente aislado, se destila en una columna de rectificación, recogiendo la fracción que destila a p.e. 114-114,5°C/15mm. Líquido amarillo. Peso 75 g. Rendimiento 95%.

Bibliografía: p.e. 133°C/26 mm. Rendimiento 85-95% (13)

Espectro IR: Desaparece la banda de vibración de tensión N-H a 3390 cm^{-1} (f)

2.- 1-bencilindol

Se modificó el método de Hans Plieninger (14) adoptando la siguiente forma:

En un matraz de tres bocas con agitador mecánico, embudo de llave y tubo de cloruro cálcico, se colocaron 1700 ml. de amoníaco líquido y 0,4 g. de nitrato férrico. Bajo fuerte agitación, se añadieron 19,55 g. (0,85 moles) de sodio metálico limpio, en pequeñas porciones y la adición se reguló de manera que la solución permanezca de color azul. A continuación, se añadieron 100 g. (0,85 moles) de indol disueltos en 100 ml. de éter anhidro y seguidamente 88 g. (0,85 moles) de cloruro de bencilo disueltos en igual volumen de éter anhidro, gota a gota durante 60 minutos. Terminada la adición, la mezcla de la reacción se continuó agitando durante una hora más, seguidamente se evaporó el amoníaco y se añadieron 200 ml. de metanol y 300 ml. de éter. Finalmente se separó en dos capas la disolución por adición de 500 ml. de agua. La fase etérea se lavó tres veces con agua, se secó con sulfato sódico anhidro y finalmente se evaporó el éter quedando un residuo aceitoso, el cual se destiló a vacío, recogiendo la fracción que destila a p.e. 165-70°C/0,7 mm. Sólido blanco. Peso 120 g. Rendimiento 67%. p.f. 44-45°C.

Bibliografía: p.e. 172-75°C/1-2 mm. Rendimiento 45%. p.f. 44°C (14).

Espectro IR: Desaparece la banda 3390 cm^{-1} (f) tensión N-H

PREPARACION DE ACIDOS

Se siguió el método de Badger, Christie, Rodda y Pryke (24) para la preparación de los compuestos de este tipo:

Bajo fuerte agitación, se añade lentamente diazoacetato de etilo a 1-alquilindol a 140°C. La mezcla de la

reacción se sigue agitando y la temperatura se mantiene a 140°C durante una hora más. Finalmente el éster se separó por destilación a presión reducida y por hidrólisis se obtiene el ácido correspondiente.

Reacciones efectuadas:

Previamente se prepararon los siguientes productos intermedios:

a).- Hidrocioruro del éster etílico de glicina

Se preparó siguiendo el método de Giral-Rojahn (35) introduciendo algunas modificaciones:

Durante 5 horas se hizo pasar una corriente de ácido clorhídrico por una disolución de 100 g. de glicina en 500 ml. de etanol absoluto y a continuación la mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas más. Se dejó enfriar la solución, se filtró y secó en desecador con hidróxido sódico, con el fin de eliminar el ácido clorhídrico que pudiera tener. Sólido blanco. Peso 184 g. p.f. 142-3°C. Rendimiento 98%. Bibliografía: p.f. 142-3°C. Rendimiento 90% (35). Espectro IR: 3300-2300 cm^{-1} (ancha) tensión NH_3 , 1740 cm^{-1} (f) tensión C=O

Espectro de RMN: ver Tabla XVI nº 5

b) Diazoacetato de etilo (36)

En un matraz de tres bocas de fondo redondo, provisto de agitador mecánico y dos embudos de llave, se colocó una solución de 140 g. (1 mol) de hidrocioruro del éster etílico de glicina y 3 g. de acetato sódico en 150 ml. de agua y se enfrió con ba-

ño de hielo y sal hasta 2°C. A continuación se añadió una solución fría de 80 g. de nitrito sódico en 100 ml. de agua, bajo fuerte agitación, y se esperó a que la temperatura descendiera a 0°C. Seguidamente, siempre bajo agitación, y manteniendo la temperatura por debajo de 2°C, se añadieron a la mezcla 80 ml. de éter etílico frío, libre de alcohol, y 3 ml. de ácido sulfúrico al 10% frío. Pasados 5 minutos la mezcla se succionó a un embudo de llave mediante aire a presión y se separó la capa etérea, que se lavó inmediatamente con 50 ml. de solución de carbonato sódico al 10% frío, hasta que la solución etérea era neutra. Finalmente se secó sobre 10 g. de sulfato sódico anhidro. Una segunda porción de 80 ml. de éter se añadió a la mezcla de reacción y seguidamente 15 ml. de ácido sulfúrico frío durante 5 minutos y después de 3 minutos de contacto se procedió como antes. Este procedimiento se repitió 6 ó 7 veces hasta que la capa etérea dejó de ser amarilla.

Por último se reunieron todas las capas etéreas y se destilaron a 20°C al vacío de trompa de agua, obteniendo un líquido amarillo que pesó 90 g. y cuya valoración se hizo siguiendo el método Houben-Weyl (37): Se goteó desde una bureta una solución de iodo en 30 ml. de éter sobre una solución de 0,5 g. de diazoacetato de etilo en éter hasta observar cambio de color de amarillo limón a rojo. Contenido en diazoacetato de etilo 70%.

c). 1-metilindolil-3-acetato de etilo

13,1 g. (0,11 moles) de diazoacetato de etilo al 70%, y 21,5 g. (0,11 moles) de 1-metilindol.

Tiempo de reacción 5 horas. Por destilación se separó de 1-metilindol (p.e. 60°C/0,2 mm, 2 g.) el éster bruto (p.e. 130-50°C/0,2 mm, 14,8 g.). La reacción se siguió por cromatografía en capa fina, desarrollada en cloroformo-éter de petróleo 30:1. Rf aproximado 0,31.

Bibliografía: 1-metilindol p.e. 46°C/0,05 mm, 3g. y producto bruto p.e. 116°C/0,05 mm 12,3 g. (24).

Espectro de RMN: ver Tabla II nº 1

d).- 1-bencilindolil-3-acetato de etilo

25 g. (0,12 moles) de 1-bencilindol y 31 g. (0,24 moles) de diazoacetato de etilo al 70%. Tiempo de reacción 7 horas. Por destilación se separó de 1-bencilindol (p.e. 70-95°C/0,2 mm, 5 g.), el producto bruto (p.e. 130-175°C/0,2 mm, 30,85 g.). La reacción se siguió por cromatografía en capa fina desarrollada en cloroformo-éter de petróleo 30:1. Rf aproximado 0,34.

Espectro de RMN: ver Tabla II nº 2

3.- Acido 1-metilindolil-3-acético.

A una solución de 34,2 g. de 1-metilindolil-3-acetato de etilo en 60 ml. de etanol se añadieron 6,8 g. de hidróxido sódico disueltos en 6 ml. de agua. La mezcla se calentó a reflujo durante una hora, a continuación se vertió sobre agua y se aciduló con ácido clorhídrico diluido. Finalmente el sólido se filtró y recristalizó de benceno-éter de petróleo. Sólido amarillo. p.f. 146-7°C. Rendimiento 43%.

Bibliografía: p.f. 128°C (24).

Análisis para $C_{11}H_{11}NO_2$

Calculado %.....C 69,58; H 5,76; N 7,19

Hallado %C 69,82; H 5,86; N 7,40
Espectro IR: 1695 cm^{-1} (f) tensión C=O; 2941 cm^{-1} (f) tensión OH; 950 cm^{-1} (m) flexión OH fuera del plano.
Espectro de RMN: ver tabla III nº 1

4.- Acido 1-bencilindolil-3-acético.

A una solución de 30,82 g. de 1-bencilindolil-3-acetato de etilo en 50 ml. de etanol se añadieron 6 g. de hidróxido sódico en 6 ml. de agua. La mezcla se calentó a reflujo durante 1 hora, a continuación se vertió sobre agua y se aciduló con ácido clorhídrico diluido. Finalmente se filtró y recristalizó dos veces de benceno-éter de petróleo. Sólido blanco amarillento. p.f. 146-7°C. Rendimiento 32%.

Bibliografía: p.f. 148°C (38)

Análisis para $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_2$

Calculado %.....C 76,95; H 5,71; N 5,24

Hallado %.....C 76,96; H 5,69; N 5,27

Espectro IR: 1698 cm^{-1} (f) tensión C=O; 2941 cm^{-1} (f) tensión OH; 925 cm^{-1} (m) flexión OH fuera del plano.

Espectro de RMN: ver Tabla III nº 2

PREPARACION DE CLORUROS DE ACIDO.

Se siguió el método descrito por Speeter y Anthony (15) para la preparación de todos los compuestos de este tipo:

En un matraz de tres bocas, provisto de agitador mecánico, embudo de llave y tubo de cloruro cálcico, se colocó una solución de indol en éter seco sobre sodio, a la cual se añadió cloruro de oxalilo, gota a gota, durante una hora; bajo fuerte agitación y manteniendo la temperatura por debajo de 20°C. El cloruro del ácido comenzó a cristalizar después de la adición de un tercio del cloruro de oxalilo. Se conti-

nuó agitando la mezcla de la reacción hasta que la precipitación era total. Finalmente el cloruro de ácido se filtró y se se có al aire.

Reacciones efectuadas:

Mediante el procedimiento descrito se llevó a cabo la preparación de los siguientes compuestos:

5.- Cloruro del ácido indolil-3-glioxílico.

10 g. de indol disueltos en 250 ml. de éter anhidro 10 ml. de cloruro de oxalilo. Tiempo de reacción 2 horas. Sólido amarillo cobrizo brillante. Peso 17,25 g. p.f. 123-4°C. Rendimiento 98%.

Bibliografía: Rendimiento 82%. (22).

Espectro IR: 1620 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 1783 cm^{-1} (f) tensión C=O haluro de acilo; 3220 cm^{-1} (f) tensión N-H

Espectro de RMN: ver Tabla I nº 1

6.- Cloruro del ácido 1-metilindolil-3-glioxílico.

140 g. de 1-metilindol, 2700 ml. de éter anhidro, 120 ml. de cloruro de oxalilo. Tiempo de reacción 3 horas. Sólido marrón claro. Peso 220 g. p.f. 91-2°C. Rendimiento 92%.

Espectro IR: 1639 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 1754 cm^{-1} (f) tensión C=O haluro de acilo.

Espectro de RMN: ver Tabla I nº 2.

7.- Cloruro del ácido 1-bencilindolil-3-glioxílico.

120 g. de 1-bencilindol, 2700 ml. de éter anhidro, 120 ml. de cloruro de oxalilo. Tiempo de reacción 3 hrs. Sólido marrón claro. Peso 128 g. p.f. 95-6°C. Rendimiento 76%.

Espectro IR: 1642 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 1786 cm^{-1} (f) tensión C=O haluro de acilo.

Espectro de RMN: ver Tabla I nº 3.

PREPARACION DE GLIOXILAMIDAS

Todos los compuestos de este tipo se han obtenido por el método de Speeter y Anthony (15):

A una solución de la amina correspondiente se añade el cloruro del ácido indolil-3-glioxílico (ó 1-alquilindolil-3-glioxílico) en pequeñas cantidades y manteniendo la temperatura entre 0-10°C. El precipitado obtenido se filtra y lava con agua.

Reacciones efectuadas:

Mediante el procedimiento anterior se llevó a cabo la preparación de los siguientes compuestos:

8.- N-metil-indolil-3-glioxilamida.

50 ml. de metil-amina acuosa (40%), 10 g. de cloruro del ácido indolil-3-glioxílico. Tiempo de reacción 1 hora. Sólido que recrystalizó de etanol. Agujas blancas. p.f. 222-3°C. Rendimiento 89%.

Bibliografía: p.f. 222-3°C. Rendimiento 71% (22)

Análisis para $C_{11}H_{10}N_2O_2$

Calculado %.....C 65,11; H 4,81; N 13,60

Hallado %.....C 65,33; H 4,98; N 13,85

Espectro IR: 1667 cm^{-1} (f) tensión C=O amídico; 1613 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 3367 cm^{-1} (f) tensión N-H amídico; 3226 cm^{-1} (f) tensión N-H indol.

Espectro de RMN: ver Tabla IV nº 1

9.- N-etil-indolil-3-glioxilamida.

70 ml. de etilamina acuosa (70%), 20 g. de cloruro del ácido indolil-3-glioxílico. Tiempo de reacción 1 hora. Sólido que recristalizó de cloroformo. Laminas amarillo brillante; p.f. 200-201°C. Rendimiento cuantitativo.

Análisis para $C_{12}H_{12}N_2O_2$

Hallado %.....C 66,57; H 5,65; N 13,09

Calculado %.....C 66,66; H 5,55; N 12,96

Espectro IR: 1667 cm^{-1} (f) tensión C=O amídico; 1613 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 3367 cm^{-1} (f) tensión N-H amídico; 3226 cm^{-1} (f) tensión N-H indol.

Espectro de RMN: ver Tabla IV nº 2.

10.- N-isopropil-indolil-3-glioxilamida.

70 ml. de isopropilamina acuosa (70%), 20 g. de cloruro del ácido indolil-3-glioxílico. Tiempo de reacción 1 hora. Sólido que recristalizó de cloroformo. Laminas amarillo brillante; p.f. 194-5°C. Rendimiento 85%.

Análisis para $C_{13}H_{14}N_2O_2$

Hallado %.....C 67,08; H 6,14; N 12,37

Calculado %.....C 67,83; H 6,09; N 12,17

Espectro IR: 1667 cm^{-1} (f) tensión C=O amídico; 1613 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 3367 cm^{-1} (f) tensión N-H amídico; 3226 cm^{-1} (f) tensión N-H indol.

Espectro de RMN: ver Tabla IV nº 3.

11.- N-bencil-indolil-3-glioxilamida.

70 ml. de bencilamina acuosa (70%), 20 g. de cloruro del ácido indolil-3-glioxílico. Tiempo de reacción 1 hora. Sólido que recristalizó de etanol. Agujas blancas; p.f. 178-179°C. Rendimiento cuantitativo.

Análisis para $C_{17}H_{14}N_2O_2$

Hallado %.....C 73,13; H 5,54; N 10,40

Calculado %.....C 73,38; H 5,04; N 10,07

Espectro IR: 1667 cm^{-1} (f) tensión C=O amídico; 1613 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 3367 cm^{-1} (f) tensión N-H amídico; 3226 cm^{-1} (f) tensión N-H indol.

Espectro de RMN: ver Tabla IV nº 4.

12.- N-metil-3-(1-metilindolil)glioxilamida.

50 ml. de metilamina acuosa (40%) y 4 g. de cloruro del ácido 1-metilindolil-3-glioxílico. Tiempo de reacción 3 horas. Sólido que recristalizó de etanol. Polvo blanco. p.f. $197-8^{\circ}\text{C}$. Rendimiento cuantitativo.

Análisis para $C_{12}H_{12}N_2O_2$

Hallado %.....C 66,43; H 5,54; N 13,26

Calculado %.....C 66,66; H 5,15; N 12,96

Espectro IR: 1667 cm^{-1} (f) tensión C=O amídico; 1613 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 3367 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla IV nº 5.

13.- N-etil-3-(1-metilindolil)glioxilamida.

30 ml. de etilamina acuosa (70%) y 4 g. de cloruro del ácido 1-metilindolil-3-glioxílico. Tiempo de reacción 4 horas. Sólido que recristalizó de etanol. Polvo blanco. p.f. $108-9^{\circ}\text{C}$. Rendimiento 99%.

Análisis para $C_{13}H_{14}N_2O_2$

Hallado %.....C 67,72; H 6,09; N 12,44

Calculado %.....C 67,83; H 6,08; N 12,17

Espectro IR: 1667 cm^{-1} (f) tensión C=O amídico; 1613 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 3367 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla IV nº 6.

14.- N-isopropil-3-(1-metilindolil)glioxilamida.

30 ml. de isopropilamina acuosa (70%) y 4 g. de cloruro del ácido 1-metilindolil-3-glioxílico. Tiempo de reacción 4 horas. Sólido que recrystalizó de benceno-éter de petróleo. Polvo blanco. p.f. 94-5°C. Rendimiento 98%.

Análisis para $C_{14}H_{16}N_2O_2$

Hallado %.....C 68,95; H 6,63; N 11,70

Calculado %.....C 68,85; H 6,56; N 11,48

Espectro IR: 1667 cm^{-1} (f) tensión C=O amídico; 1613 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 3356 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla IV nº 7.

15.- N-bencil-3-(1-metilindolil)glioxilamida.

30 ml. de bencilamina acuosa (60%) y 3 g. de cloruro del ácido 1-metilindolil-3-glioxílico. Tiempo de reacción 4 horas. Sólido que recrystalizó de etanol. Polvo blanco. p.f. 139-40°C. Rendimiento cuantitativo.

Análisis para $C_{18}H_{16}N_2O_2$

Hallado %.....C 74,02; H 5,53; N 9,85

Calculado %.....C 73,97; H 5,47; N 9,58

Espectro IR: 1667 cm^{-1} (f) tensión C=O amídico; 1613 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 3356 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla IV nº 8.

16.- N-metil-3-(1-bencilindolil)glioxilamida.

30 ml. de metilamina acuosa (40%) y 5 g. de cloruro del ácido 1-bencilindolil-3-glioxílico. Tiempo de reacción 3 horas. Sólido que recrystalizó de etanol. Polvo blanco. p.f. 205-6°C. Rendimiento cuantitativo.

Análisis para $C_{18}H_{16}N_2O_2$

Hallado %.....C 74,04; H 5,62; N 9,59

Calculado %.....C 73,97; H 5,47; N 9,58

Espectro IR: 1667 cm^{-1} (f) tensión C=O amídico; 1613 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 3356 cm^{-1} (f) tensión N-H.
Espectro de RMN: ver Tabla IV nº 9.

17.- N-etil-3-(1-bencilindolil)glioxilamida.

40 ml. de etilamina acuosa (70%) y 10 g. de cloruro del ácido 1-bencilindolil-3-glioxílico. Tiempo de reacción 4 horas. Sólido que recrystalizó de etanol. Polvo blanco. p.f. $127-8^{\circ}\text{C}$. Rendimiento 98%.

Análisis para $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$

Hallado %.....C 74,75; H 5,75; N 9,46

Calculado %.....C 74,50; H 5,88; N 9,15

Espectro IR: 1667 cm^{-1} (f) tensión C=O amídico; 1613 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 3356 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla IV nº 10.

18.- N-isopropil-3-(1-bencilindolil)glioxilamida.

40 ml. de isopropilamina acuosa (70%) y 10 g. de cloruro del ácido 1-bencilindolil-3-glioxílico. Tiempo de reacción 7 horas. Sólido que recrystalizó de etanol. Polvo blanco. p.f. $140-1^{\circ}\text{C}$. Rendimiento 99%.

Análisis para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$

Hallado %.....C 74,77; H 6,35; N 8,79

Calculado %.....C 75,00; H 6,25; N 8,75

Espectro IR: 1667 cm^{-1} (f) tensión C=O amídico; 1613 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 3356 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla IV nº 11.

19.- N-bencil-3-(1-bencilindolil)glioxilamida.

20 ml. de bencilamina acuosa (60%) y 5 g. de cloruro del ácido 1-bencilindolil-3-glioxílico. Tiempo de reacción 5 horas. Sólido que recrystalizó de etanol. Polvo blanco.

p.f. 126-7°C. Rendimiento cuantitativo.

Análisis para $C_{24}H_{20}N_2O_2$

Hallado %.....C 78,48; H 5,52; N 7,56

Calculado %.....C 78,26; H 5,43; N 7,60

Espectro IR: 1667 cm^{-1} (f) tensión C=O amídico; 1613 cm^{-1} (f) tensión C=O cetónico; 3333 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla IV nº 12.

PREPARACION DE ACETAMIDAS

Todos los productos de este tipo se han obtenido por el siguiente método:

A una solución de ácido 1-alkilindolil-3-acético en éter anhidro se añade lentamente, en pequeñas porciones, y bajo agitación pentacloruro de fósforo en la proporción de 1,1 moles por mol de ácido de modo que la temperatura se mantenga alrededor de 0°C. La mezcla de la reacción se mantiene bajo agitación durante toda la noche a temperatura ambiente. A continuación se añade la amina correspondiente en solución acuosa, hasta pH alcalino y seguidamente se añade ácido clorhídrico diluido con el fin de neutralizar el exceso de amina. Finalmente el sólido se filtra y lava con agua para disolver el hidrocloreuro de amina formado.

La solución etérea se separa por decantación y se concentra hasta un tercio del volumen original, recuperando así el producto disuelto en el éter.

Reacciones efectuadas:

Mediante el procedimiento descrito se llevó a cabo la preparación de los siguientes compuestos:

20.- N-metil-3-(1-metilindolil)acetamida.

4 g. (0,021 moles) de ácido 1-metilindolil-3-acético en 200 ml. de éter y 4,82 g. (0,023 moles) de pentacloruro de fósforo. Metilamina acuosa (40%) hasta pH 8. Sólido que recristaliza de benceno-éter de petróleo. Cristales blanco sucio. p.f. 86-7°C. Rendimiento 94%.

Análisis para $C_{12}H_{14}N_2O$

Hallado %.....C 70,97; H 7,17; N 13,79

Calculado %.....C 71,26; H 6,97; N 13,87

Espectro IR: 1639 cm^{-1} (f) tensión C=O; 3333 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla V nº 1

21.- N-etil-3-(1-metilindolil)acetamida.

4 g. (0,021 moles) de ácido 1-metilindolil-3-acético en 200 ml. de éter y 4,84 g. (0,023 moles) de pentacloruro de fósforo. Etilamina acuosa (70%) hasta pH 8. Sólido que recristaliza de benceno-éter de petróleo. Cristales amarillos. p.f. 84-5°C. Rendimiento 93%.

Análisis para $C_{13}H_{16}N_2O$

Hallado %.....C 72,35; H 7,70; N 13,11

Calculado %.....C 72,12; H 7,45; N 12,95

Espectro IR: 1639 cm^{-1} (f) tensión C=O; 3333 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla V nº 2.

22.- N-isopropil-3-(1-metilindolil)acetamida.

4 g. (0,021 moles) de ácido 1-metilindolil-3-acético en 200 ml. de éter y 4,84 g. (0,023 moles) de pentacloruro de fósforo. Isopropilamina acuosa (70%) hasta pH 8. Sólido que recristaliza de benceno-éter de petróleo. Cristales amarillos. p.f. 112-3°C. Rendimiento 94%.

Análisis para $C_{14}H_{18}N_2O$

Hallado %.....C 72,83; H 8,10; N 11,96

Calculado %.....C 73,01; H 7,87; N 12,16

Espectro IR: 1639 cm^{-1} (f) tensión C=O; 3367 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla V nº 3

23.- N-bencil-3-(1-metilindolil)acetamida.

0,6 g. (0,003 moles) de ácido 1-metilindolil-3-acético en 60 ml. de éter anhidro y 0,73 g. (0,0035 moles) de pentacloruro de fósforo. Bencilamina hasta pH 8. Sólido que re cristaliza de alcohol-éter de petróleo. Agujas blanco sucio. p.f. $115-6^{\circ}\text{C}$. Rendimiento 95%.

Análisis para $C_{18}H_{18}N_2O$

Hallado %.....C 77,52; H 6,42; N 10,01

Calculado %.....C 77,66; H 6,51; N 10,06

Espectro IR: 1639 cm^{-1} (f) tensión C=O; 3367 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla V nº 4

24.- N-metil-3-(1-bencilindolil)acetamida.

2 g. (0,0075 moles) de ácido 1-bencilindolil-3-acético en 200 ml. de éter y 1,73 g. (0,0083 moles) de pentacloruro de fósforo. Metilamina acuosa (40%) hasta pH= 8. Sólido que recrystaliza de benceno-éter de petróleo. Cristales blanco sucio. p.f. $134-5^{\circ}\text{C}$. Rendimiento 95%.

Análisis para $C_{18}H_{18}N_2O$

Hallado %.....C 77,96; H 6,27; N 9,95

Calculado %.....C 77,66; H 6,51; N 10,06

Espectro IR: 1639 cm^{-1} (f) tensión C=O; 3333 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla V nº 5

25.- N-etil-3-(1-bencilindolil)acetamida.

2 g. (0,0075 moles) de ácido 1-bencilindolil-3-acético en 200 ml. de éter y 1,73 g. (0,0083 moles) de pentacloruro de fósforo. Etilamina acuosa (70%) hasta pH 8. Sólido que recrystaliza de benceno-éter de petróleo. Agujas blanco sucio, p.f. 111-2°C. Rendimiento 95%.

Análisis para $C_{19}H_{20}N_2O$

Hallado %.....C 77,69; H 6,85; N 9,60

Calculado %.....C 78,05; H 6,87; N 9,58

Espectro IR: 1639 cm^{-1} (f) tensión C=O; 3333 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla V nº 6.

26.- N-isopropil-3-(1-bencilindolil)acetamida.

2 g. (0,0075 moles) de ácido 1-bencilindolil-3-acético en 200 ml. de éter y 1,73 g. (0,0083 moles) de pentacloruro de fósforo. Isopropilamina hasta pH 8. Sólido que recrystaliza de benceno-éter de petróleo. Polvo blanco, p.f. 121-2°C. Rendimiento 94%.

Análisis para $C_{20}H_{22}N_2O$

Hallado %.....C 78,56; H 7,28; N 9,25

Calculado %.....C 78,39; H 7,23; N 9,14

Espectro IR: 1639 cm^{-1} (f) tensión C=O; 3333 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla V nº 7.

27.- N-bencil-3-(1-bencilindolil)acetamida.

1,9 g. (0,0072 moles) de ácido 1-bencilindolil-3-acético en 200 ml. de éter y 1,64 g. (0,0078 moles) de pentacloruro de fósforo. Bencilamina hasta pH 8. Sólido que recrystaliza de benceno-éter de petróleo. Cristales blanco sucio, p.f. 115-6°C. Rendimiento 95%.

Análisis para $C_{24}H_{22}N_2O$

Hallado %.....C 81,09; H 6,07; N 7,75

Calculado %.....C 81,32; H 6,25; N 7,90

Espectro IR: 1639 cm^{-1} (f) tensión $C=O$; 3333 cm^{-1} (f) tensión N-H.

Espectro de RMN: ver Tabla V nº 8.

PREPARACION DE AMINAS SECUNDARIAS

Se obtuvieron por alguno de los métodos siguientes, ambos descritos por Roland Stauffer (22):

- a) Reducción de glioxilamidas por hidruro de litio y aluminio en suspensión etérea, en un aparato de Soxhlet:

A un matraz de fondo redondo, conteniendo éter anhidro con hidruro de litio y aluminio en suspensión en la proporción de 6 moles por mol de glioxilamida, se adapta un aparato Soxhlet provisto del correspondiente cartucho en el cual se ha colocado la glioxilamida. Manteniendo el éter a ebullición se consigue extraer la glioxilamida pasando al matraz de reacción donde será reducida. La marcha de la reacción se sigue por cromatografía en capa fina desarrollada en etanol. La reacción se da por terminada cuando la intensidad de la mancha correspondiente a glioxilamida no varia con el tiempo. Los tiempos de reacción varían desde 30 horas hasta 9 días. Una vez se da por terminada la reacción, se efectua la descomposición de los complejos formados, así como del exceso de hidruro de litio y aluminio, con tetrahidrofurano acuoso (80%) primero y después con agua. A continuación se separa la solución etérea por filtración y posteriormente se seca con sulfato sódico anhidro. Por destilación a vacío de esta solución se obtiene un aceite del que,

generalmente, se aislan las aminas en forma de bases libres por destilación a presión reducida o por disgregación con éter, aunque en algunos casos se han aislado en forma de sal a partir de dicho aceite.

b) Reducción de acetamidas con hidruro de litio y aluminio en suspensión en tetrahidrofurano:

En un matraz de fondo redondo provisto de embudo de llave y refrigerante, se coloca una suspensión de hidruro de litio y aluminio en tetrahidrofurano, a la cual se añade, lentamente y bajo agitación, una solución de la acetamida correspondiente en tetrahidrofurano. Seguidamente, la mezcla de la reacción, se pone a reflujo. El curso de la reacción se sigue por cromatografía en capa fina desarrollada en cloroformo-trietilamina 4:1. Cuando la mancha correspondiente a la acetamida desaparece o bien no varia su intensidad con el tiempo, la reacción se da por terminada. Los tiempos de reacción varían de lo a 12 horas. A continuación se efectua la descomposición de los complejos formados y del exceso de litio y aluminio por adición de hidróxido sódico al 10% y posteriormente agua. Una vez filtrada y secada sobre sulfato sódico anhidro, la solución etérea se destila a la trompa de agua, recogiendo un aceite del que se aislan y purifican las aminas en forma de sales.

Reacciones efectuadas:

Mediante alguno de los procedimientos anteriores. se llevó a cabo la preparación de los siguientes compuestos:

28.- 3-(2-metilaminoetil)indol. Según el procedimiento a).

10 g. (0,05 moles) de N-metilindolil-3-glioxilamida; 10 g. (0,26 moles) de hidruro de litio y aluminio; 833 ml. de éter; 10 ml. de tetrahidrofurano; 10 ml. de agua. Tiempo de reacción 6 días. Rf aproximado 0,24.

Se aisló un aceite amarillo que se destiló recogiendo la fracción correspondiente a 150-50°C/0,2 mm Hg. Sólido que recrystaliza de benceno-éter de petróleo. Agujas blancas; p. f. 93-40°C. Rendimiento 64%.

Bibliografía: p.f. 89-90°C. Rendimiento 71% (22)

Análisis para $C_{11}H_{14}N_2$

Hallado %.....C 75,74; H 7,95; N 16,31

Calculado %.....C 75,86; H 8,04; N 16,09

Espectro IR: 3333 cm^{-1} (ancha) tensión N-H asociado; 1626 cm^{-1} (d) flexión N-H; 1370 cm^{-1} (f) tensión C-N.

Espectro de RMN: ver Tabla VI nº 1

Hidrobromuro.

A una solución de 1 g. de amina en 50 ml. de éter anhidro se añade una solución etérea de ácido bromhídrico hasta pH 7. Sólido que recrystaliza de acetonitrilo; p.f. 160-10°C. Rendimiento cuantitativo.

Análisis para $C_{11}H_{15}N_2Br$

Hallado %.....C 52,29; H 5,82; N 10,80; Br 31,05

Calculado %.....C 52,14; H 5,83; N 10,89; Br 31,12

Espectro IR: 3390 cm^{-1} (f) tensión N-H; 2778 cm^{-1} (f) y 2439 cm^{-1} (f) tensión NH_2 ; 1613 cm^{-1} (d) flexión NH_2 .

Espectro de RMN: ver Tabla VII nº 1.

29.- 3-(2-etilaminoetil)indol. Según el procedimiento a)..

10 g. (0,048 moles) de N-etilindolil-3-glioxilamida; 10 g. (0,26 moles) de hidruro de litio y aluminio; 850 ml. de éter; 10 ml. de tetrahidrofurano; 10 ml. de agua. Tiempo de reacción 6 días. Rf aproximado 0,26.

Se aisló un aceite que se destiló, recogiendo la fracción correspondiente a 140-65°C/0,2 mm Hg. Sólido que recristaliza de éter-éter de petróleo. Agujas blancas; p.f. 89-90°C. Rendimiento 50%.

Bibliografía: p.f. 87-88°C.

Análisis para $C_{12}H_{16}N_2$

Hallado %.....C 76,70; H 8,23; N 14,62

Calculado %.....C 76,59; H 8,51; N 14,69

Espectro IR: 3333-2326 cm^{-1} (ancha) tensión N-H asociado; 1626 cm^{-1} (d) flexión N-H; 1370 cm^{-1} (f) tensión C-N.

Espectro de RMN: ver Tabla VI nº 2.

Hidrobromuro.

A una solución de 1 g. de amina en 40 ml. de éter anhidro se añade una solución de ácido bromhídrico en éter hasta neutralidad. Sólido que recristaliza de acetonitrilo. Polvo blanco; p.f. 138-90°C. Rendimiento cuantitativo.

Análisis para $C_{12}H_{17}N_2Br$

Hallado %.....C 53,77; H 6,25; N 10,19; Br 29,76

Calculado %.....C 53,52; H 6,36; N 10,40; Br 29,70

Espectro IR: 3390 cm^{-1} (f) tensión N-H; 2778 cm^{-1} y 2439 cm^{-1} (f) tensión NH_2 ; 1613 cm^{-1} (d) flexión NH_2 .

Espectro de RMN: ver Tabla VII nº 2.

30.- 3-(2-isopropilaminoetil)indol. Según el procedimiento a).

10 g. (0,044 moles) de N-isopropilindolil-3-glioxilamida; 10 g. (0,26 moles) de hidruro de litio y aluminio; 850 ml. de éter; 10 ml. de tetrahidrofurano; 10 ml. de agua. Tiempo de reacción 6 días. Rf aproximado 0,26.

Se aisló un aceite que se destiló recogiendo la fracción correspondiente a 87-152°C/0,2 mm Hg. Sólido que recristaliza de éter-éter de petróleo; p.f. 100-1°C. Cristales amarillos. Rendimiento 69%.

Análisis para $C_{13}H_{18}N_2$

Hallado %.....C 77,38; H 8,85; N 13,85

Calculado %.....C 77,23; H 8,91; N 13,86

Espectro IR: 3333-2326 cm^{-1} (ancha) tensión N-H asociado;
1626 cm^{-1} (d) flexión N-H; 1370 cm^{-1} tensión C-N.

Espectro de RMN: ver Tabla VI nº 3.

Hidrobromuro.

A una solución de 2 g. de amina en 60 ml. de éter se añade una solución de ácido bromhídrico en éter anhidro hasta pH 7. Sólido blanco que recrystaliza de acetonitrilo. Agujas blancas; p.f. 213-4°C. Rendimiento cuantitativo.

Análisis para $C_{13}H_{19}N_2Br$

Hallado %.....C 54,96; H 6,81; N 10,06; Br 28,37

Calculado %.....C 55,12; H 6,71; N 9,90; Br 28,26

Espectro IR: 3390 cm^{-1} (f) tensión $N-H$; 2780 y 2439 cm^{-1} (f) tensión NH_2 ; 1613 cm^{-1} (d) flexión NH_2 .

Espectro de RMN: ver Tabla VII nº 3.

31.- 3-(2-bencilaminoetil)indol. Según el procedimiento a).

10 g. (0,036 moles) de N-bencilindolil-3-glioxilamida; 8,20 g. (0,22 moles) de hidruro de litio y aluminio; 850 ml. de éter; 10 ml. de tetrahidrofurano; 10 ml. de agua. Tiempo de reacción 7 días. Rf aproximado 0,38.

Se aisló un aceite a partir del cual se prepararon las sales:

Picrato.

1 g. del aceite anterior se disolvió en etanol y a continuación se añadió una solución alcohólica de ácido pícrico, hasta neutralidad. Sólido que recrystaliza de etanol. Cristales rojo anaranjado; p.f. 181-2°C. Rendimiento 59%.

Análisis para $C_{23}H_{21}N_5O_7$

Hallado %.....C 57,44; H 4,50; N 14,48

Calculado %.....C 57,68; H 4,38; N 14,61

Espectro IR: 3354 cm^{-1} (m) tensión N-H; 1553 cm^{-1} (f) tensión N-O antisimétrica; 1333 cm^{-1} (f) tensión N-O simétrica; 1250 cm^{-1} (f) tensión C-O.

Espectro de RMN: ver Tabla VII nº 5

Hidrobromuro.

4 g. del aceite anterior se disolvieron en éter anhidro (60 ml.) y a continuación se añadió ácido bromhídrico en solución etérea hasta pH 7. Sólido que recrystaliza de etanol-éter. Cristales blanco sucio; p.f. $214-5^{\circ}\text{C}$. Rendimiento 57%.

Análisis para $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{Br}$

Hallado %.....C 61,90; H 5,94; N 8,59

Calculado %.....C 61,63; H 5,74; N 8,46

Espectro IR: 3390 cm^{-1} (f) tensión N-H; 2778 y 2439 cm^{-1} (f) tensión NH_2 ; 1613 cm^{-1} (d) flexión NH_2 .

Espectro de RMN: ver Tabla VII nº 4.

32.- 3-(1-hidroxí-2-metilaminoetil)1-metilindol. Según el procedimiento a).

10 g. (0,046 moles) de N-metil-3-(1-metilindolil)glicilamida; 10 g. (0,26 moles) de hidruro de litio y aluminio; 800 ml. de éter; 20 ml. de tetrahidrofurano; 20 ml. de agua. Tiempo de reacción 40 horas. Rf aproximado 0,11.

Se aisló un producto semisólido que se disgregó con éter. Sólido que recrystaliza de benceno. Polvo blanco; p.f. $122-3^{\circ}\text{C}$. Rendimiento 64%.

Análisis para $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2$

Hallado %.....C 70,91; H 7,79; N 13,89

Calculado %.....C 70,57; H 7,84; N 13,72

Espectro IR: 3571 cm^{-1} a 2326 cm^{-1} (f) tensión O-H y N-H (asociación).

Espectro de RMN: ver Tabla VIII nº 1.

Hidrobromuro.

A una solución de 1 g. de amina en 50 ml. de éter anhidro se añade una solución etérea de ácido bromhídrico, hasta pH 7. Aparece un precipitado blanco que se coloreó progresivamente hasta hacerse morado. Era higroscópico, por lo que se pasó inmediatamente a un desecador con anhídrido fosfórico. A continuación se intentó recrystalizar de acetonitrilo-éter, apareciendo un precipitado gomoso que se dejó en la nevera durante toda la noche. El precipitado evolucionó a forma cristalina. Cristales amarillos; p.f. 218°C (descomposición). Rendimiento 22%.

No se consiguió obtener un análisis correcto, aunque se intentó por sucesivas recrystalizaciones. (Vease pag. 31). Espectro IR: 3472 cm^{-1} (ancha) tensión O-H; 2703 cm^{-1} (d) tensión NH_2 ; 1613 cm^{-1} (d) flexión NH_2 . Espectro de RMN: ver Tabla IX nº 1

Oxalato.

A una solución de 2 g. de amina en 100 ml. de éter se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta neutralidad. Sólido que recrystaliza de etanol. Agujas blancas; p.f. 155°C (descomposición). Rendimiento 96%.

No se consiguió un análisis correcto, aunque se intentó por sucesivas recrystalizaciones. (Vease pag. 33). Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1471 cm^{-1} (ancha) y 1370 cm^{-1} (d) anión carboxilato. Espectro de RMN: ver Tabla X nº 1.

33.- 3-(1-hidroxi-2-etilaminoetil)1-metilindol. Según el procedimiento a).

10 g. (0,045 moles) de N-etil-3-(1-metilindolil)glioxilamida; 9 g. (0,23 moles) de hidruro de litio y aluminio; 800 ml. de éter; 20 ml. de tetrahidrofurano; 20 ml. de agua.

Tiempo de reacción 30 horas. Rf aproximado 0,13.

Sólido que recrystaliza de benceno-éter de petróleo.

Polvo blanco sucio; p.f. 118-9°C. Rendimiento 65%.

Análisis para $C_{13}H_{18}N_2O$

Hallado %.....C 71,59; H 8,16; N 12,23

Calculado %.....C 71,55; H 8,28; N 12,80

Espectro IR: 3571-2326 cm^{-1} (f) tensión O-H y N-H (asociación)

Espectro de RMN: ver Tabla VIII nº 2.

Hidrobromuro.

A una suspensión de 3 g. de amina en 100 ml. de éter anhidro se añade una solución etérea de ácido bromhídrico. Apareció un precipitado blanco que se coloreó hasta llegar a verde oscuro. Era higroscópico, por lo que se filtró e inmediatamente se pasó a un desecador con anhídrido fosfórico y se mantuvo durante la noche. A continuación se recrystalizó de acetonitrilo. Polvo blanco sucio; p.f. 250-1°C. Rendimiento 24%.

Análisis para $C_{13}H_{19}N_2OBr$

Hallado %.....C 55,44; H 5,96; N 10,28

Calculado %.....C 55,12; H 6,71; N 9,98

Espectro IR: 3472 cm^{-1} (ancha) tensión O-H; 2703 cm^{-1} (m) y 2410 cm^{-1} (d) tensión NH_2 ; 1613 cm^{-1} (d) flexión NH_2 .

Espectro de RMN: ver Tabla IX nº 2.

Oxalato.

A una suspensión etérea de 2 g. de amina en 60 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Sólido que recrystaliza de acetonitrilo. Polvo blanco sucio; p.f. 142-3°C. Rendimiento 70%.

Análisis para $C_{15}H_{20}N_2O_5$

Hallado %.....C 61,52; H 6,70; N 9,80

Calculado %.....C 61,62; H 6,89; N 9,58

Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1741 cm^{-1}

(ancha) y 1370 cm^{-1} (d) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla X nº 2.

34.- 3-(1-hidroxi-2-isopropilaminoetil)1-metilindol. Según el procedimiento a).

10 g. (0,043 moles) de N-isopropil-3-(1-metilindolil)glioxilamida; 9 g. (0,23 moles) de hidruro de litio y aluminio; 800 ml. de éter anhidro; 20 ml. de tetrahydrofurano; 20 ml. de agua. Tiempo de reacción 65 horas. Rf aproximado 0,20.

Sólido que recristaliza de benceno. Polvo blanco. Rendimiento 68%.

No se consiguió un análisis correcto, aunque se intentó por sucesivas recristalizaciones. (Vease pag. 31).

Espectro IR: 3571 cm^{-1} (f) tensión N-H y O-H (asociación)

Espectro de RMN: ver Tabla VIII nº 3.

Hidrobromuro.

A una solución de 1 g. de amina en 100 ml. de éter anhidro se añade una solución etérea de ácido bromhídrico, hasta pH 7. Apareció un precipitado blanco que se coloreó progresivamente hasta llegar a morado. Era higroscópico, por lo que se mantuvo en un desecador con anhídrido fosfórico durante toda la noche. A continuación se recristalizó de acetoni-trilo. Polvo violaceo; p.f. $148-9^{\circ}\text{C}$. Rendimiento 25%.

No se consiguió obtener un análisis correcto, aunque se intentó por sucesivas recristalizaciones. (Vease pag. 33)

Espectro IR: 3472 cm^{-1} (ancha) tensión O-H; 2703 cm^{-1} (m) y 2410 cm^{-1} (d) tensión NH_2 ; 1613 cm^{-1} (d) flexión NH_2 .

Espectro de RMN: ver Tabla IX nº 3.

Oxalato.

A una solución de 1 g. de amina en 100 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Apareció un precipitado que era higroscópico por lo

que se mantuvo en un desecador con anhídrido fosfórico durante toda la noche. A continuación se recrystalizó de etanol-éter. Polvo blanco sucio; p.f. 159°C (descomposición). Rendimiento 70%.

No se consiguió obtener un análisis correcto, aunque se intentó por sucesivas recrystalizaciones. (Vease pag. 33).

Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1741 cm^{-1} (ancha) y 1370 cm^{-1} (d) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla X nº 3.

35.- 3-(1-hidroxi-2-bencilaminoetil)1-metilindol. Según el procedimiento a).

10 g. (0,036 moles) de N-bencil-3-(1-metilindolil)-glioxilamida; 8 g. (0,21 moles) de hidruro de litio y aluminio; 850 ml. de éter; 20 ml. de tetrahidrofurano; 20 ml. de agua. Tiempo de reacción 80 horas. Rf aproximado 0,40.

Sólido que recrystaliza de benceno. Polvo blanco; p.f. 98-9°C. Rendimiento 70%.

Análisis para $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$

Hallado %.....C 76,88; H 7,11; N 9,87

Calculado %.....C 77,01; H 7,14; N 10,00

Espectro IR: 3571 cm^{-1} (f) tensión N-H y O-H (asociación)

Espectro de RMN: ver Tabla VIII nº 4.

Oxalato.

A una solución de 4 g. de amina en 250 ml. de éter anhidro se añadió una solución de ácido oxálico en éter, hasta pH 7. Sólido que recrystaliza de etanol. Polvo blanco sucio; p.f. 165-6°C. Rendimiento cuantitativo.

No se consiguió obtener un análisis correcto, aunque se intentó por sucesivas recrystalizaciones. (Vease pag. 33).

Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1741 cm^{-1} (ancha) y 1370 cm^{-1} (d) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla X nº 4.

Se intentó preparar el hidrobromuro disolviendo la amina en éter anhidro y añadiendo una solución etérea de ácido bromhídrico hasta pH 7. Apareció un precipitado marrón gomoso que disgregado con acetona se transformó en un sólido blanco, que se identificó como hidrobromuro de bencilamina:

Análisis para $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{NBr}$

Hallado %.....C 44,92; H 5,28; N 8,03

Calculado %.....C 44,90; H 5,32; N 7,70

Espectro IR: $3226\text{--}2326\text{ cm}^{-1}$ (ancha) tensión NH_3 .

Espectro de RMN: ver Tabla XVI nº 1.

36.- 3-(1-hidroxi-2-metilaminoetil)1-bencilindol. Según el procedimiento a).

10 g. (0,035 moles) de N-metil-3-(1-bencilindolil)-glioxilamida; 8 g. (0,21 moles) de hidruro de litio y aluminio; 850 ml. de éter; 20 ml. de tetrahidrofurano; 20 ml. de agua. Tiempo de reacción 9 días. Rf aproximado 0,18.

Se aisló un aceite que se disgregó con éter y se obtuvo un sólido que recristalizó de benceno-éter de petróleo. Polvo blanco; p.f. $67\text{--}80^\circ\text{C}$. Rendimiento 69%.

Análisis para $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$

Hallado %.....C 78,07; H 7,21; N 9,03

Calculado %.....C 78,14; H 7,14; N 10,00

Espectro IR: 3571 cm^{-1} (f) tensión N-H y O-H (asociación)

Espectro de RMN: ver Tabla VIII nº 5.

Maleato

A una solución de 1 g. de amina en 60 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido maleico, has-

ta pH 7. Apareció un precipitado higroscópico que se mantuvo en un desecador con anhídrido fosfórico durante la noche. A continuación se recrystalizó de acetonitrilo-éter. Cristales blancos; p.f. 100-101°C. Rendimiento 70%.

Análisis para $C_{20}H_{24}N_2O_5$

Hallado %.....C 67,67; H 6,16; N 7,03

Calculado %.....C 67,66; H 6,06; N 7,07

Espectro IR: 3333 cm^{-1} (ancha) tensión O-H; 3125-2222 cm^{-1} (ancha) tensión NH_2 .

Espectro de RMN: ver Tabla X nº 5'.

Oxalato.

A una solución de 1 g. de amina en 100 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido oxálico hasta neutralidad. Sólido que recrystaliza de etanol. Polvo blanco; p.f. 131°C (descomposición). Rendimiento 85%.

Análisis para $C_{20}H_{22}N_2O_5$

Hallado %.....C 64,55; H 5,71; N 7,90

Calculado %.....C 64,86; H 5,94; N 7,56

Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1741 cm^{-1} (ancha) y 1370 cm^{-1} (d) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla X nº 5.

Al intentar recrystalizar este producto de nitrometano, se aisló un sólido blanco que se identificó como oxalato de metilamina:

Análisis para $C_3H_7NO_4$

Hallado %.....C 30,00; H 5,43; N 12,13

Calculado %.....C 29,75; H 5,78; N 11,57

Espectro IR: 3226-2326 cm^{-1} (f) tensión NH_3 .

Espectro de RMN: ver Tabla XVI nº 4.

También se intentaron preparar el hidrocloreuro y el

hidrobromuro, pero sin éxito. En ambos casos se obtuvieron productos gomosos intratables.

37.- 3-(1-hidroxi-2-etilaminoetil)1-bencilindol. Según el procedimiento a).

10 g. (0,033 moles) de N-etil-3-(1-bencilindolil)glioxilamida; 8 g. (0,21 moles) de hidruro de litio y aluminio; 850 ml. de éter; 20 ml. de tetrahidrofurano; 20 ml. de agua. Tiempo de reacción 4 días. Rf aproximado 0,21.

Se aisló un sólido que recrystalizó de benceno-éter de petróleo. Agujas blancas; p.f. 97-80°C. Rendimiento 85%.

No se consiguió obtener un análisis correcto, aunque se intentó por sucesivas recrystalizaciones. (Vease pag. 31)
Espectro IR: 3571 cm^{-1} (f) tensión N-H y O-H (asociación)
Espectro de RMN: ver Tabla VIII nº 6.

Se intentó preparar el hidrobromuro, aunque sin éxito. Se obtuvo un producto gomoso intratable.

38.- 3-(1-hidroxi-2-isopropilaminoetil)1-bencilindol. Según el procedimiento a).

10 g. (0,032 moles) de N-isopropil-3-(1-bencilindolil)glioxilamida; 7,4 g. (0,19 moles) de hidruro de litio y aluminio; 850 ml. de éter; 20 ml. de tetrahidrofurano; 20 ml. de agua. Tiempo de reacción 4 días. Rf aproximado 0,25.

Se aisló un aceite que se disgregó con éter para dar un sólido que recrystalizó de cloroformo-éter de petróleo. Polvo blanco; p.f. 67-80°C. Rendimiento 75%.

No se consiguió obtener un análisis correcto, aunque se intentó por sucesivas recrystalizaciones. (vease pag. 31)
Espectro IR: 3571 cm^{-1} (f) tensión N-H y O-H (asociación)
Espectro de RMN: ver Tabla VIII nº 7.

Maleato.

A una solución de 2 g. de amina en 80 ml. de éter anhidro se añadió una solución de ácido maleico, hasta pH 7. Sólido que recristaliza de acetonitrilo-éter. Cristales blancos; p.f. 108-9°C. Rendimiento 81%.

No se consiguió obtener un análisis correcto, aunque se intentó por sucesivas recristalizaciones. (Vease pag. 33)
Espectro IR: $3333\frac{1}{2}$ cm^{-1} (ancha) tensión O-H; $3125-2222$ cm^{-1} (ancha) tensión NH_2 .
Espectro de RMN: ver Tabla X nº 6'.

También se intentaron preparar el hidrocloruro y el hidrobromuro, pero sin éxito. En ambos casos se obtuvieron productos intratables.

39.- 3-(1-hidroxi-2-bencilaminoetil)1-bencilindol. Según el procedimiento a).

10 g. (0,028 moles) de N-bencil-3-(1-bencilindolil)glioxilamida; 6,4 g. (0,17 moles) de hidruro de litio y aluminio; 850 ml. de éter; 20 ml. de tetrahidrofurano; 20 ml. de agua. Tiempo de reacción 7 días. Rf aproximado 0,51.

Se aisló un sólido que recristaliza de benceno-éter de petróleo. Polvo blanco; p.f. 65-6°C. Rendimiento 81%.

Análisis para $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$

Hallado %.....C 80,91; H 6,68; N 7,59

Calculado %.....C 80,89; H 6,74; N 7,86

Espectro IR: 3571 cm^{-1} (f) tensión N-H y O-H (asociación).

Espectro de RMN: ver Tabla VIII nº 8.

Oxalato.

A una solución de 1 g. de amina en 70 ml. de éter anhidro se añade una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Sólido que recristaliza de etanol. Polvo blanco; p.f. 185-6°C. Rendimiento 81%.

No se consiguió obtener un análisis correcto, aunque se intentó por sucesivas recristalizaciones. (Vease pag. 33). Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1471 cm^{-1} (ancha) y 1370 cm^{-1} (d) anión carboxilato. Espectro de RMN: ver Tabla X nº 7.

Se intentó preparar el hidrobromuro disolviendo la amina en éter anhidro y añadiendo una solución etérea de ácido bromhídrico, hasta pH 7. Se separó un precipitado blanco, que progresivamente se coloreó hasta llegar a marrón oscuro. Se disolvió en nitrometano y se añadió éter con lo que se separó un sólido blanco que se identificó como hidrobromuro de bencilamina:

Análisis para $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{NBr}$

Hallado %.....C 44,92; H 5,28; N 8,03

Calculado %.....C 44,79; H 5,32; N 7,95

Espectro IR: $3226-2326\text{ cm}^{-1}$ (ancha) tensión NH_3 .

Espectro de RMN: ver Tabla XVI nº 1.

Se intentó una nueva preparación análoga a la anterior, pero manteniendo la temperatura a -70°C . Se observó la aparición de un precipitado blanco que se lavó sucesivas veces con éter anhidro y que al abandonarlo a la temperatura ambiente se coloreó hasta alcanzar color grosella. Era muy higroscópico por lo que se mantuvo en un desecador con anhídrido fosfórico durante toda la noche. A continuación se intentó recristalizar de acetonitrilo y apareció un producto gomoso intratable.

También se intentó reducir la correspondiente glioxilamida en idénticas condiciones que las anteriormente descritas pero empleando tetrahidrofurano anhidro en lugar de éter. Se aisló un aceite, a partir del cual se intentó prepa

rar el oxalato, obteniéndose un sólido blanco que se identificó como oxalato de bencilamina:

Análisis para $C_9H_{10}NO_4$

Hallado %.....C 53,15; H 5,66; N 6,79

Calculado %.....C 54,82; H 5,58; N 7,30

Espectro de RMN: ver Tabla XVI nº 3.

40.- 3-(2-metilaminoetil)1-metilindol. Según el procedimiento b).

2,75 g. (0,013 moles) de N-metil-3-(1-metilindolil)-acetamida; 1,55 g. (0,040 moles) de hidruro de litio y aluminio; 100 ml. de tetrahidrofurano; 8 ml. de hidróxido sódico y 8 ml. de agua. Tiempo de reacción 10 horas. Rf aproximado 0,23.

Se aisló un aceite de color marrón, a partir del cual se preparó el correspondiente:

Oxalato.

A una solución de 2 g. del aceite anterior en 60 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Sólido que recrystaliza de etanol. Polvo blanco; p.f. 168°C (descomposición). Rendimiento 36%.

Análisis para $C_{14}H_{18}N_2O_4$

Hallado %.....C 60,33; H 6,59; N 10,87

Calculado %.....C 60,42; H 6,51; N 10,60

Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1471 cm^{-1} y 1370 cm^{-1} (d) anión carboxilato.

41.- 3-(2-etilaminoetil)1-metilindol. Según el procedimiento b).

2,5 g. (0,01 moles) de N-etil-3-(1-metilindolil)acetamida; 1,33 g. (0,035 moles) de hidruro de litio y aluminio; 100 ml. de tetrahidrofurano; 8 ml. de hidróxido sódico; 8 ml. de agua. Tiempo de reacción 10 horas. Rf aproximado 0,50.

Se aisló un aceite de color marrón, a partir del cual se preparó el correspondiente:

Oxalato

A una solución de 2,7 g. del aceite anterior en 70 ml. de éter se añade una solución etérea de ácido oxálico hasta pH 7. Se aisló un sólido que recrystaliza de etanol. Polvo blanco sucio; p.f. 160-6°C (descomposición). Rendimiento 50%.

Análisis para $C_{15}H_{20}N_2O_4$

Hallado %.....C 61,42; H 6,72; N 9,88

Calculado %.....C 61,62; H 6,89; N 9,58

Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1471 cm^{-1} (ancha) y 1370 cm^{-1} (d) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XI nº 2.

42.- 3-(2-isopropilaminoetil)1-metilindol. Según el procedimiento b).

4 g. (0,017 moles) de N-isopropil-3-(1-metilindolil) acetamida; 2,2 g. (0,058 moles) de hidruro de litio y aluminio; 100 ml. de tetrahidrofurano; 10 ml. de hidróxido sódico; 10 ml. de agua. Tiempo de reacción 10 horas. Rf aproximado 0,71.

Se aisló un aceite a partir del cual se preparó el correspondiente:

Oxalato

A una solución de 2 g. del aceite anterior en 60 ml. de éter se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Sólido blanco que recrystaliza de etanol-éter. Polvo blanco; p.f. 177°C (descomposición). Rendimiento 48%.

Análisis para $C_{16}H_{22}N_2O_4$

Hallado %.....C 62,62; H 7,26; N 9,28

Calculado %.....C 62,72; H 7,23; N 9,14

Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1471 cm^{-1} (ancha) y 1370 cm^{-1} (d) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XI nº 3.

43.- 3-(2-bencilaminoetil)1-metilindol. Según el procedimiento b).

4 g. (0,014 moles) de N-bencil-3-(1-metilindolil)acetamida; 2 g. (0,053 moles) de hidruro de litio y aluminio; 100 ml. de tetrahidrofurano; 10 ml. de hidróxido sódico; 10 ml. de agua. Tiempo de reacción 12 horas. Rf aproximado 0,78.

Se aisló un aceite a partir del cual se preparó el correspondiente:

Oxalato

A una solución de 3 g. del aceite anterior en 80 ml. de éter anhidro, se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Sólido que recrystaliza de etanol. Polvo blanco sucio; p.f. 172°C (descomposición). Rendimiento 50%.

Análisis para $C_{20}H_{22}N_2O_4$

Hallado %.....C 67,33; H 5,97; N 8,05

Calculado %.....C 67,78; H 6,25; N 7,90

Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1471 cm^{-1} (ancha) y 1370 cm^{-1} (d) tensión C=O anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XI nº 4.

Se intentó preparar el hidrocloruro, para lo cual se descompuso previamente el oxalato, con el fin de tener la amina purificada: 0,5 g. (0,0015 moles) del oxalato anterior, suspendidos en 40 ml. de benceno anhidro y posterior adición de 0,2 ml. de terc-butilamina. La mezcla de reacción se agitó durante dos horas. A continuación se filtró el oxalato de terc-butilamina formado y la solución se evaporó hasta sequedad. Se aisló un aceite que se abandonó en un desecador con ácido sulfúrico durante toda la noche, con el fin de eliminar la terc-butilamina en exceso.

A una solución de 0,3 g. del aceite anterior, disueltos en éter anhidro, se añadió una solución etérea de ácido clorhídrico, hasta pH 7. Se observó la aparición de un preci-

pitado higroscópico que se lavó tres veces con éter anhidro por decantación, y seguidamente se intentó recrystalizar de acetonitrilo. Se obtuvo un sólido que se identificó como hidrocioruro de bencilamina:

Análisis para $C_7H_{10}NCl$

Hallado %.....59,03; H 7,00; N 8,01

Calculado %.....58,62; H 7,33; N 9,60

Espectro IR: 3226-2326 cm^{-1} (ancha) tensión NH_3 .

Espectro de RMN: ver Tabla XVI nº 2.

44.- 3-(2-metilaminoetil)1-bencilindol. Según el procedimiento b).

3,9 g. (0,014 moles) de N-metil-3-(1-bencilindolil)-acetamida; 1,64 g. (0,043 moles) de hidruro de litio y aluminio; 100 ml. de tetrahidrofurano; 8 ml. de agua; 8 ml. de hidróxido sódico; Tiempo de reacción 10 horas. Rf aproximado 0,71

Se aisló un aceite a partir del cual se preparó el correspondiente:

Oxalato

A una solución de 4 g. del aceite anterior en 100 ml. de éter se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Sólido que recrystaliza de etanol. Polvo blanco sucio; p.f. 174°C (descomposición). Rendimiento 34%.

Análisis para $C_{20}H_{22}N_2O_4$

Hallado %.....C 68,00; H 6,24; N 8,16

Calculado %.....C 67,78; H 6,25; N 7,90

Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1471 cm^{-1} (ancha) y 1370 cm^{-1} (d) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XI nº 5.

45.- 3-(2-etilaminoetil)1-bencilindol. Según el procedimiento b).

2,2 g. (0,007 moles) de N-etil-3-(1-bencilindolil)-acetamida; 0,86 g. (0,023 moles) de hidruro de litio y aluminio; 70 ml. de tetrahidrofurano; 4 ml. de hidroxido sódico; 4 ml. de agua. Tiempo de reacción 10 horas. Rf aproximado 0,92.

Se aisló un aceite marrón a partir del cual se preparó el correspondiente:

Oxalato

A una solución de 2 g. del aceite anterior en 60 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Sólido que recrystaliza de etanol. Polvo blanco sucio; p.f. 176°C (descomposición). Rendimiento 35%.

Análisis para $C_{21}H_{24}N_2O_4$

Hallado %.....C 68,19; H 6,32; N 7,88

Calculado %.....C 68,46; H 6,56; N 7,60

Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1471 cm^{-1} (ancha) y 1370 cm^{-1} (d) tensión C=O anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XI nº 6.

46.- 3-(2-isopropilaminoetil)1-bencilindol. Según el procedimiento b).

1,5 g. (0,005 moles) de N-isopropil-3-(1-bencilindolil)acetamida; 0,55 g. (0,015 moles) de hidruro de litio y aluminio; 100 ml. de tetrahidrofurano; 5 ml. de hidróxido sódico; 5 ml. de agua. Tiempo de reacción 10 horas. Rf aproximado 0,94.

Se aisló un aceite marrón a partir del cual se preparó el correspondiente:

Oxalato

A una solución de 1,45 g. del aceite anterior en 100 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Sólido que recrystaliza de etanol. Agujas blancas; p.f. 182°C (descomposición). Rendimiento 65%.

Análisis para $C_{22}H_{26}N_2O_4$

Hallado %.....C 68,68; H 6,72; N 7,20

Calculado %.....C 69,09; H 6,85; N 7,32

Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1471 cm^{-1} (ancha) y 1370 cm^{-1} (d) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XI nº 7.

47.- 3-(2-bencilaminoetil)1-bencilindol. Según el procedimiento b).

2 g. (0,005 moles) de N-bencil-3-(1-bencilindolil)acetamida; 0,64 g. (0,017 moles) de hidruro de litio y aluminio; 100 ml. de tetrahidrofurano; 6 ml. de hidróxido sódico; 6 ml. de agua. Tiempo de reacción 12 horas. Rf aproximado 0,96.

Se aisló un aceite marrón a partir del cual se preparó el correspondiente:

Oxalato

A una solución de 1,7 g. del aceite anterior en 80 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Sólido que recrystaliza de etanol. Polvo blanco sucio; p.f. 219°C (descomposición). Rendimiento 65%.

Análisis para $C_{26}H_{26}N_2O_4$

Hallado %.....C 72,28; H 6,09; N 6,76

Calculado %.....C 72,53; H 6,08; N 6,50

Espectro IR: 1709 cm^{-1} (ancha) tensión C=O ácido; 1471 cm^{-1} (ancha) y 1370 cm^{-1} (d) tensión C=O anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XI nº 8.

PREPARACION DE AMINAS TERCIARIAS

Se obtuvieron por el siguiente método general:

A una suspensión de m moles de la sal de amina secundaria correspondiente en benceno anhidro se añaden $(2m + 20\%$

exceso) moles de terc-butilamina y se agita durante 10 minutos para los hidrobromuros y 1 hora para los oxalatos. A continuación se filtra y a la solución se le añaden (m + 20% exceso) moles de bromuro de propargilo. La reacción se sigue por cromatografía en capa fina.

Los tiempos de reacción varían mucho. A medida que transcurre la reacción, se observa la aparición de un sólido en forma de agujas transparentes. Cuando se da por terminada la reacción, se filtra y se evapora el disolvente para dar, generalmente, un aceite que se aplica sobre placas de cromatografía en capa preparativa. Una vez desarrollada la placa, el producto se extrae con el disolvente apropiado. Finalmente se evapora dicho disolvente.

En los casos en que es posible se preparan sales de estos compuestos.

Si se parte de la amina libre, en lugar de la sal, la preparación se lleva a cabo de manera análoga a la anteriormente descrita, únicamente la cantidad de terc-butilamina es la mitad.

Reacciones efectuadas:

Por el procedimiento anterior se ha llevado a cabo la preparación de los siguientes compuestos:

48.- 3-[2-(N-metil-N-(2-propinil)) aminoetil] indol.

2 g. (0,0094 moles) de 3-(2-metilaminoetil)indol;
1,15 ml. de terc-butilamina; 0,82 ml. de bromuro de propargilo.
Tiempo de reacción 6 horas. Cromatografía desarrollada con cloroformo-trietilamina 3:1. Rf aproximado 0,50. Elución con cloruro de metileno.

Se aisló un aceite a partir del cual se prepararon las siguientes sales:

Hidrobromuro

A una solución de 1,75 g. del aceite anterior en 60 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido bromhídrico hasta pH 7. Se separó un precipitado higroscópico que se abandonó durante toda la noche en un desecador con anhídrido fosfórico. El sólido se recrystalizó de acetonitrilo-éter, apareciendo primero un precipitado en forma de aceite que abandonado en la nevera evoluciona a forma cristalina. Cristales blancos; p.f. 118-9°C. Rendimiento 50%.

Análisis para $C_{14}H_{17}N_2Br$

Hallado %.....C 57,49; H 9,44; N 9,44; Br 27,22

Calculado %.....C 57,33; H 9,80; N 9,54; Br 27,30

Espectro IR: 3344 cm^{-1} (f) tensión N-H; 3226 cm^{-1} (m) tensión C-H en $C\equiv CH$; 2128 cm^{-1} (d) tensión $C\equiv CH$.

Espectro de RMN: ver Tabla XIII nº 1.

Picrato

A una solución de 0,5 g. del aceite anterior en 40 ml. de benceno anhidro se añadió una solución bencénica de ácido pícrico, hasta neutralidad. Se separó un sólido que recrystaliza de etanol. Cristales rojo-anaranjado; p.f. 167-8°C. Rendimiento 55,8%.

Análisis para $C_{20}H_{19}N_5O_7$

Hallado %.....C 54,45; H 4,32; N 16,26

Calculado %.....C 54,42; H 4,31; N 15,87

Espectro IR: 3344 cm^{-1} (f) tensión N-H; 3226 cm^{-1} (m) tensión C-H en $C\equiv CH$; 2128 cm^{-1} (d) tensión $C\equiv CH$; 1587 cm^{-1} (f) tensión N-O antisimétrica; 1351 cm^{-1} (f) tensión N-O simétrica.

Espectro de RMN: ver Tabla XII nº 1.

49.- 3-[2-[N-etil-N-(2-propinil)] aminoetil] indol.

0,5 g. (0,0022 moles) de 3-(etilaminoetil)indol; 0,26 ml. de terc-butilamina; 0,158 ml. de bromuro de propargilo.

Tiempo de reacción 3 días. Cromatografía desarrollada con acetonitrilo-trietilamina 15:1. Rf aproximado 0,67. Elución con cloruro de metileno.

Se aisló un aceite a partir del cual se prepararon las siguientes sales:

Hidrobromuro

A una solución de 0,4 g. del aceite anterior en 30 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido bromhídrico, hasta pH 7. Se separó un sólido higroscópico que se abandonó en un desecador con anhídrido fosfórico durante toda la noche, y se recristalizó de acetonitrilo-éter. Cristales blanco sucio; p.f. 122-3°C. Rendimiento 79%.

Análisis para $C_{15}H_{19}N_2Br$

Hallado %.....C 58,74; H 6,28; N 9,25; Br 26,03

Calculado %C 58,63; H 6,18; N 9,12; Br 26,05

Espectro IR: 3344 cm^{-1} (f) tensión N-H; 3226 cm^{-1} (m) tensión C-H en $C\equiv CH$; 2128 cm^{-1} (d) tensión $C\equiv CH$.

Espectro de RMN: ver Tabla XIII nº 2.

Picrato

A una solución de 0,4 g. del aceite anterior en 30 ml. de benceno anhidro se añadió una solución bencénica de ácido pícrico, hasta neutralidad. Se separó un sólido que recristaliza de etanol. Polvo amarillo-anaranjado; p.f. 148-9°C. Rendimiento 83,3%.

Análisis para $C_{21}H_{21}N_5O_7$

Hallado %.....C 55,10; H 4,61; N 15,12

Calculado %.....C 55,38; H 4,64; N 15,38

Espectro IR: 3344 cm^{-1} (f) tensión N-H; 3226 cm^{-1} (f) tensión C-H en $C\equiv CH$; 2128 cm^{-1} (d) tensión $C\equiv CH$; 1587 cm^{-1} (f) tensión N-O antisimétrica; 1351 cm^{-1} (f) tensión N-O simétrica.

Espectro de RMN: ver Tabla XII nº 2.

50.- 3-[2-[N-isopropil-N-(2-propinil)] aminoetil] indol.

0,2 g. (0,0008 moles) de 3-(2-isoprpiilaminoetil)indol; 0,103 ml. de terc-butilamina; 0,074 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 5 días. Cromatografía desarrollada con cloroformo-trietilamina 4:1. Rf aproximado 0,57. Elución con cloruro de metileno.

Se aisló un aceite a partir del cual se prepararon las siguientes sales:

Picrato

A una solución de 0,2 g. del aceite anterior en 30 ml. de etanol se añadió una solución alcohólica de ácido pícrico, hasta neutralidad. Se separó un sólido que recrystaliza de etanol. Cristales rojos; p.f. 161-2°C. Rendimiento 52%.

Análisis para $C_{22}H_{23}N_5O_7$

Hallado %.....C 56,44; H 4,94; N 15,00

Calculado %.....C 56,28; H 4,90; N 14,92

Espectro IR: 3344 cm^{-1} (f) tensión N-H; 3226 cm^{-1} (f) tensión C-H en $C\equiv CH$; 2128 cm^{-1} (d) tensión $C\equiv CH$; 1587 cm^{-1} (f) tensión N-O antisimétrica; 1351 cm^{-1} (f) tensión N-O simétrica.

Espectro de RMN: ver Tabla XII nº 3.

Maleato

A una solución de 0,2 g. del aceite anterior en 30 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido maleico, hasta pH 7. Apareció un precipitado en forma de aceite que se abandonó en la nevera y evolucionó a forma cristalina. Se recrystalizó de acetonitrilo-éter. Cristales blanco sucio; p.f. 102-3°C. Rendimiento 45%.

Análisis para $C_{20}H_{24}N_2O_4$

Hallado %.....C 67,50; H 6,74; N 7,97

Calculado %.....C 67,39; H 6,78; N 7,85

Espectro IR: 3344 cm^{-1} (f) tensión N-H; 3226 cm^{-1} (f) tensión C-H en $C\equiv CH$; 2128 cm^{-1} (d) $C\equiv CH$.

Espectro de RMN: ver Tabla XIII nº 3.

También se intentaron preparar las siguientes sales: hidrobromuro, hidrocloreuro, tartrato y fumarato, aunque sin éxito en todos los casos. Siempre aparecía un aceite intratable.

51.- 3-[2-[N-bencil-N-(2-propinil)]aminoetil]indol.

0,2 g. (0,0006 moles) de hidrobromuro de 3-(2-bencil-aminoetil) indol; 0,15 ml. de terc-butilamina; 0,05 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 5 días. Cromatografía desarrollada con cloroformo-trietilamina 4:1. Rf aproximado 0,62. Elución con cloruro de metileno.

Se aisló un aceite a partir del cual se preparó el:
Hidrobromuro

A una solución de 0,5 g. del aceite anterior en 50 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido bromhídrico, hasta pH 7. Se separó un sólido que recristaliza de nitrometano. Cristales marrón claro; p.f. 194-5°C. Rendimiento 95%.

Análisis para $C_{20}H_{21}N_2Br$

Hallado %.....C 65,33; H 5,72; N 7,80; Br 21,64

Calculado %.....C 65,04; H 5,69; N 7,61; Br 21,68

Espectro IR: 3344 cm^{-1} (f) tensión N-H; 3226 cm^{-1} (f) tensión C-H en $C\equiv CH$; 2128 cm^{-1} (d) tensión $C\equiv CH$.

Espectro de RMN: ver Tabla XIII nº 4.

También se intentó preparar el picrato pero solamente se obtuvo un aceite intratable.

52.- 3-[1-hidroxi-2-[N-metil-N-(2-propinil)]aminoetil]1-metil indol.

1 g. (0,0033 moles) de oxalato de 3-(1-hidroxi-2-me-

tilaminoetil)1-metilindol; 0,80 ml. de terc-butilamina; 0,35 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 30 horas. Cromatografía desarrollada con cloroformo-trietilamina 4:1. Rf aproximado 0,80. Aceite amarillo. Espectro IR: 3410 cm^{-1} (ancha) tensión O-H asociado; 2100 cm^{-1} (d) tensión $\text{C}\equiv\text{CH}$. Espectro de RMN: ver Tabla XIV nº 1.

Tambien se intentaron preparar el hidrocloreuro y el hidrobromuro, no consiguiendose en ninguno de los casos. Siempre apareció un producto gomoso intratable.

53.- 3-[1-hidroxi-2-[N-etil-N-(2-propinil)]aminoetil]1-metilindol.

0,2 g. (0,0006 moles) de hidrobromuro de 3-(1-hidroxi 2-etilaminoetil)1-metilindol; 0,16 ml. de terc-butilamina y 0,061 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 24 horas. Cromatografía desarrollada con cloroformo-trietilamina 4:1. Rf aproximado 0,81. Aceite amarillo. Espectro IR: 3410 cm^{-1} (ancha) tensión O-H asociado; 2100 cm^{-1} (d) tensión $\text{C}\equiv\text{CH}$. Espectro de RMN: ver Tabla XIV nº 2.

Tambien se intentaron preparar el hidrocloreuro y el hidrobromuro, no consiguiendose en ninguno de los casos. Apareció un producto gomoso intratable.

54.- 3-[1-hidroxi-2-[N-isopropil-N-(2-propinil)]aminoetil]1-metilindol.

0,5 g. (0,0016 moles) de hidrobromuro de 3-(1-hidroxi 2-isopropilaminoetil)1-metilindol; 0,36 ml. de terc-butilamina; 0,17 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 72

horas. Cromatografía desarrollada con cloroformo-trietilamina 4:1. Rf aproximado 0,88. Aceite amarillo.
Espectro IR: 3410 cm^{-1} (ancha) tensión O-H asociado; 2100 cm^{-1} (d) tensión $\text{C}\equiv\text{CH}$.
Espectro de RMN: ver Tabla XIV nº 3.

También se intentaron preparar las siguientes sales, disolviendo el aceite anterior en éter y añadiendo el ácido correspondiente en solución etérea, no consiguiéndose en ningún caso:

Oxalato: Se obtuvo un sólido, que se identificó como oxalato de isopropil-propinilamina.

Análisis para $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_4$

Hallado %.....C 53,18; H 7,07; N 7,35

Calculado %.....C.53,04; H 7,18; N 7,73

Hidrocloreto: Se aisló un sólido que se identificó como hidrocloreto de isopropil-propinilamina.

Espectro de RMN: ver Tabla XVII nº 4.

Hidrobromuro: Se obtuvo un sólido que se identificó como hidrobromuro de isopropil-propinilamina.

Espectro de RMN: ver Tabla XVII nº 2.

Maleato y perclorato: En ambos casos se aisló un producto gomoso intratable.

55.- 3-[1-hidroxil-2-[N-bencil-N-(2-propinil)] aminoetil] 1-metilindol.

0,5 g. (0,0014 moles) de hidrobromuro de 3-(1-hidroxil-2-bencilaminoetil)1-metilindol; 0,60 ml. de terc-butilamina; 0,14 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 36 horas. Cromatografía desarrollada con cloroformo-trietilamina 4:1. Rf aproximado 0,87. Aceite amarillo.
Espectro IR: 3410 cm^{-1} (ancha) tensión O-H asociado; 2100 cm^{-1} (d) tensión $\text{C}\equiv\text{CH}$.

Espectro de RMN: ver Tabla XIV nº 4.

56.- 3-[1-hidroxi-2-[N-metil-N-(2-propinil)] aminoetil] 1-bencilindol.

0,2 g. (0,0006 moles) de oxalato de 3-(1-hidroxi-2-metilaminoetil)1-bencilindol; 0,104 ml. de terc-butilamina; 0,046 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 24 horas. Cromatografía desarrollada con cloroformo-trietilamina 4:1. Rf aproximado 0,70. Aceite amarillo.

Espectro IR: 3410 cm^{-1} (ancha) tensión O-H asociado; 2100 cm^{-1} (d) tensión $\text{C}\equiv\text{CH}$.

Espectro de RMN: ver Tabla XIV nº 5.

57.- 3-[1-hidroxi-2-[N-etil-N-(2-propinil)] aminoetil] 1-bencilindol.

0,2 g. (0,0006 moles) de 3-(1-hidroxi-2-etilaminoetil)1-bencilindol; 0,075 ml. de terc-butilamina; 0,068 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 30 horas. Cromatografía desarrollada con cloroformo-trietilamina 4:1. Rf aproximado 0,80. Sólido amarillo. Rendimiento 95%.

Análisis para $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$

Hallado %..... C 78,93; H 7,08; N 8,10

Calculado %..... C 79,50; H 7,72; N 8,43

Espectro IR: 3410 cm^{-1} (ancha) tensión O-H asociado; 2100 cm^{-1} (d) tensión $\text{C}\equiv\text{CH}$.

Espectro de RMN: ver Tabla XIV nº 6.

Tambien se intentaron preparar las siguientes sales:

Hidrobromuro: Se obtuvo un sólido que se identificó como hidrobromuro de etil-propinilamina.

Análisis para $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NBr}$

Hallado %..... C 36,62; H 6,07; N 8,33

Calculado %..... C 36,50; H 6,09; N 8,54

Espectro IR: 2564 cm^{-1} (m) y 2439 cm^{-1} (f) tensión NH_2^+ ; 2128 cm^{-1} (d) tensión $\text{C}\equiv\text{CH}$.

Espectro de RMN: ver Tabla XVII nº 1.

Oxalato: Se obtuvo un sólido que se identificó como oxalato de etil-propinilamina.

Espectro de RMN: ver Tabla XVII nº 5.

58.- 3-[1-hidroxi-2-[N-isopropil-N-(2-propinil)] aminoetil]1-bencilindol.

0,2 g. (0,0005 moles) de oxalato de 3-(1-hidroxi-2-isopropilaminoetil)1-bencilindol; 0,108 ml. de terc-butilamina; 0,05 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 65 horas. Cromatografía desarrollada con cloroformo-trietilamina 4:1. Rf aproximado 0,78. Aceite amarillo.

Espectro IR: 3410 cm^{-1} (ancha) tensión O-H asociado; 2100 cm^{-1} (d) tensión $\text{C}\equiv\text{CH}$.

Espectro de RMN: ver Tabla XIV nº 7.

59.- 3-[1-hidroxi-2-[N-bencil-N-(2-propinil)] aminoetil]1-bencilindol.

0,2 g. (0,0006 moles) de 3-(1-hidroxi-2-bencilaminoetil)1-bencilindol; 0,066 ml. de terc-butilamina; 0,055 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 48 horas. Cromatografía desarrollada con cloroformo-trietilamina 4:1. Rf aproximado 0,88. Aceite amarillo.

Espectro IR: 3410 cm^{-1} (ancha) tensión O-H asociado; 2100 cm^{-1} (d) tensión $\text{C}\equiv\text{CH}$.

Espectro de RMN: ver Tabla XIV nº 8.

También se intentó preparar el hidrobromuro y no se consiguió aislándose un sólido que se identificó como hidrobromuro de bencil-propinilamina.

Análisis para $C_{10}H_{12}NBr$

Hallado %.....C 52,97; H 5,41; N 6,41; Br 35,39

Calculado %.....C 53,09; H 5,30; N 6,19; Br 35,39

Espectro. IR: 2564 cm^{-1} (m) y 2439 cm^{-1} (f) tensión NH_2 ; 2128 cm^{-1} (d) tensión $C\equiv CH$.

Espectro de RMN: ver Tabla XVII nº 3.

60.- 3-[2-[N-metil-N-(2-propinil)]aminoetil]1-metilindol.

0,7 g. (0,0031 moles) de oxalato de 3-(2-metilaminoetil)1-metilindol; 0,47 ml. de terc-butilamina; 0,24 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 60 horas. Cromatografía desarrollada con éter de petróleo-trietilamina 5:1. Rf aproximado 0,23. Aceite amarillo.

Oxalato

A una solución de 0,3 g. del aceite anterior en 40 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido axálico, hasta pH 7. Se obtuvo un sólido que recristalizó de etanol. Polvo blanco; p.f. $132^{\circ}C$ (descomposición). Rendimiento 75%.

Análisis para $C_{17}H_{20}N_2O_4$

Hallado %.....C 64,11; H 6,48; N 8,77

Calculado %.....C 64,33; H 6,66; N 8,82

Espectro IR: 3226 cm^{-1} (m) tensión C-H en $C\equiv CH$; 2128 cm^{-1} (d) tensión $C\equiv CH$; 1626 cm^{-1} (f) tensión C=O ácido; 1460 cm^{-1} (f) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XV nº 1.

61.- 3-[2-[N-etil-N-(2-propinil)]aminoetil]1-metilindol.

0,9 g. (0,027 moles) de oxalato de 3-(2-etilaminoetil)1-metilindol; 0,60 ml. de terc-butilamina; 0,28 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 60 horas. Cromatografía desarrollada con éter de petróleo-trietilamina 5:1.

Rf aproximado 0,32. Aceite amarillo.

Oxalato

A una solución de 0,3 g. del aceite anterior en 40 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Se obtuvo un sólido que recrystaliza de etanol-éter de petróleo. Agujas blancas; p.f. 115°C (descomposición). Rendimiento 52%.

Análisis para $C_{18}H_{22}N_2O_4$

Hallado %.....C 65,67; H 7,00; N 8,29

Calculado %.....C 65,43; H 6,71; N 8,47

Espectro IR: 3226 cm^{-1} (m) tensión C-H en $C\equiv CH$; 1626 cm^{-1} (f) tensión $C=O$ ácido; 1460 cm^{-1} (f) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XV nº 2.

62.- 3-[2-[N-isopropil-N-(2-propinil)]aminoetil]1-metilindol.

0,9 g. (0,0026 moles) de oxalato de 3-(2-isopropil-aminoetil)1-metilindol; 0,68 ml. de terc-butilamina; 0,28 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 4 días. Cromatografía desarrollada en éter de petróleo-trietilamina 5:1. Rf aproximado 0,34. Aceite amarillo.

Oxalato

A una solución de 0,3 g. del aceite anterior en 40 ml. de éter se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Se obtuvo un sólido que recrystaliza de etanol-éter de petróleo. Polvo blanco; p.f. 114°C (descomposición). Rendimiento 74%.

Análisis para $C_{19}H_{24}N_2O_4$

Hallado %.....C 66,28; H 6,95; N 8,19

Calculado %.....C 66,26; H 7,02; N 8,13

Espectro IR: 2128 cm^{-1} (d) tensión $C\equiv CH$; 1626 cm^{-1} (f) tensión $C=O$ ácido; 1460 cm^{-1} (f) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XV nº 3.

63.- 3-[2-[N-bencil-N-(2-propinil)]aminoetil]1-metilindol.

1 g. (0,0026 moles) de oxalato de 3-(2-bencilaminoetil)1-metilindol; 0,53 ml. de terc-butilamina; 0,21 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 4 días. Cromatografía desarrollada con éter de petróleo-trietilamina 5:1. Rf aproximado 0,30. Aceite amarillo.

Oxalato

A una solución de 0,3 g. del aceite anterior en 40 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Se separó un sólido que recrystaliza de etanol. Cristales blancos; p.f. 166°C (descomposición). Rendimiento 69%.

Análisis para $C_{23}H_{24}N_2O_4$

Hallado %.....C 70,42; H 6,38; N 7,37

Calculado %.....C 70,39; H 6,16; N 7,13

Espectro IR: 3226 cm^{-1} (m) tensión C-H en $C\equiv CH$; 2128 cm^{-1} (d) tensión $C\equiv CH$; 1626 cm^{-1} (f) tensión C=O ácido; 1460 cm^{-1} (f) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XV nº 4.

64.- 3-[2-[N-metil-N-(2-propinil)]aminoetil]1-bencilindol.

0,7 g. (0,0023 moles) de oxalato de 3-(2-metilaminoetil)1-bencilindol; 0,40 ml. de terc-butilamina; 0,19 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 60 horas. Cromatografía desarrollada con éter de petróleo-trietilamina 5:1. Rf aproximado 0,32. Aceite amarillo.

Oxalato

A una solución de 0,3 g. del aceite anterior en 40 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Se aisló un sólido que recrystaliza de etanol. Polvo blanco; p.f. 139-40°C. Rendimiento 93%.

Análisis para $C_{23}H_{24}N_2O_4$

Hallado %.....C 70,23; H 6,29; N 7,34

Calculado %.....C 70,39; H 6,16; N 7,13

Espectro IR: 3226 cm^{-1} (m) tensión C-H en C \equiv CH; 2128 cm^{-1} (d) tensión C \equiv CH; 1626 cm^{-1} (f) tensión C=O ácido; 1460 cm^{-1} (f) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XV nº 5.

65.- 3-[2-[N-etil-N-(2-propinil)aminoetil]1-bencilindol].

0,5 g. (0,0015 moles) de oxalato de 3-(2-etilaminoetil)1-bencilindol; 0,30 ml. de terc-butilamina; 0,11 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 60 horas. Cromatografía desarrollada con éter de petróleo-trietilamina 5:1. Rf aproximado 0,29. Aceite amarillo.

Oxalato

A una solución de 0,3 g. del aceite anterior en 40 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Se obtuvo un sólido que recrystaliza de etanol-éter de petróleo. Cristales blancos; p.f. 160°C (descomposición). Rendimiento 78%.

Análisis para C₂₄H₂₆N₂O₄

Hallado %.....C 71,05; H 6,46; N 6,97

Calculado %.....C 70,91; H 6,44; N 6,89

Espectro IR: 3226 cm^{-1} (m) tensión C-H en C \equiv CH; 2128 cm^{-1} (d) tensión C \equiv CH; 1626 cm^{-1} (f) tensión C=O ácido; 1460 cm^{-1} (f) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XV nº 6.

66.- 3-[2-[N-isopropil-N-(2-propinil)aminoetil]1-bencilindol].

0,5 g. (0,0012 moles) de oxalato de 3-(2-isopropilaminoetil)1-bencilindol; 0,28 ml. de terc-butilamina; 0,128 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 4 días. Cromatografía desarrollada con éter de petróleo-trietilamina 5:1.

Rf aproximado 0,35. Aceite amarillo.

Oxalato

A una solución de 0,3 g. del aceite anterior en 40 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Se obtuvo un sólido que recrystaliza de etanol-éter de petróleo. Cristales blancos; p.f. 148°C (descomposición). Rendimiento 60%.

Análisis para $C_{25}H_{28}N_2O_4$

Hallado %.....C 71,12; H 6,49; N 6,43

Calculado %.....C 71,40; H 6,71; N 6,66

Espectro IR: 3226 cm^{-1} (d) tensión C-H en $C\equiv CH$; 2128 cm^{-1} (d) tensión $C\equiv CH$; 1626 cm^{-1} (f) tensión C=O ácido; 1460 cm^{-1} (f) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XV nº 7.

67.- 3-[2-[N-bencil-N-(2-propinil)aminoetil]1-bencilindol.

0,6 g. (0,003 moles) de oxalato de 3-(2-bencilaminoetil)1-bencilindol; 0,31 ml. de terc-butilamina; 0,135 ml. de bromuro de propargilo. Tiempo de reacción 4 días. Cromatografía desarrollada con cloroformo-trietilamina 4:1. Rf aproximado 0,74. Aceite amarillo.

Oxalato

A una solución de 0,3 g. del aceite anterior en 40 ml. de éter anhidro se añadió una solución etérea de ácido oxálico, hasta pH 7. Se obtuvo un sólido que recrystaliza de etanol-éter de petróleo. Cristales blanco sucio; p.f. 143°C (descomposición). Rendimiento 65%.

Análisis para $C_{29}H_{28}N_2O_4$

Hallado %.....C 74,55; H 6,31; N 6,01

Calculado %.....C 74,33; H 6,02; N 5,97

Espectro IR: 3226 cm^{-1} (m) tensión C-H en $C\equiv CH$; 2128 cm^{-1} (d) tensión $C\equiv CH$. 1626 cm^{-1} (f) tensión C=O ácido; 1460 cm^{-1} (f) anión carboxilato.

Espectro de RMN: ver Tabla XV nº 8.

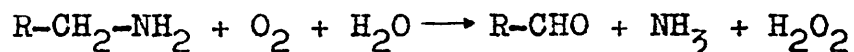
PARTE III

INHIBICION DE MONOAMINOOXIDASA POR
PROPINILAMINAS INDOLICAS

METODOS PARA LA DETERMINACION DE MONOAMINOOXIDASAS

El objeto de este apartado es exponer los resultados obtenidos en los ensayos de los productos descritos en la parte II, en cuanto a su actividad como inhibidores de monoamino oxidasa mitocondrial. Previamente vamos a hacer un comentario de los métodos usualmente utilizados en la determinación de estas enzimas, como justificación a la elección del método manométrico que hemos empleado.

La reacción general que cataliza la enzima es la siguiente:



y los sustratos empleados son generalmente ariletilaminas, tales como tiramina, adrenalina, noradrenalina, triptamina o serotonina.

Werle (39) en 1964, hizo una revisión de los métodos disponibles para el ensayo de la actividad de la monoaminooxi dasa, que incluye una variedad de técnicas manométricas, de difusión y espectrofotométricas, basadas en el oxígeno consumi do (40), producción de amoníaco (41), análisis simultáneos de consumo de oxígeno y producción de amoníaco (42), valoración de sustrato desaparecido bajo la acción de MAO (43), o determinación del aldehído formado por la reacción (44). Este último procedimiento se adapta frecuentemente al empleo de métodos colorimétricos, espectrofotométricos o fluorimétri cos, muy sensibles y precisos, empleando como sustratos aminas adecuadas como quinureninamina (45).

Los métodos más utilizados para la determinación de MAO son:

- 1.- Métodos colorimétricos y de difusión para la determinación de agua oxigenada y amoniaco.
- 2.- Métodos colorimétricos y espectrofotométricos para la determinación de aldehidos.
- 3.- Método manométrico, que determina el oxígeno consumido.
- 4.- Otros métodos espectrofotométricos.

1.- Métodos colorimétricos y de difusión para la determinación de agua oxigenada y amoniaco.(46) (47)

Para la determinación de agua oxigenada Zeller (48) ha utilizado la oxidación de indigo disulfonado como reacción coloreada y lo ha aplicado a la determinación de varias amino oxidasas.

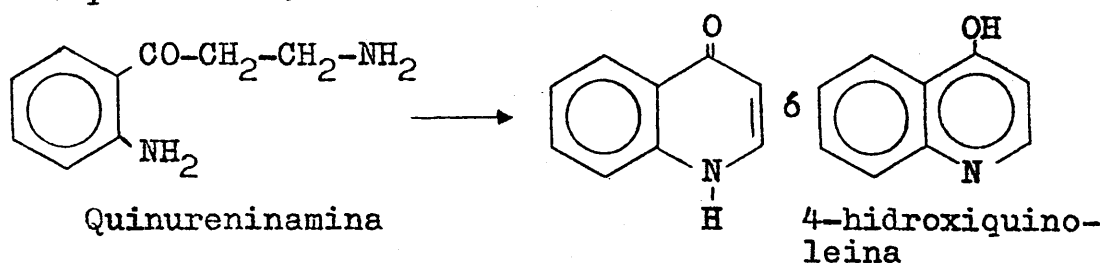
El método propuesto por Braganca, Quastel y Schucher (49), en el que miden el amoniaco liberado por la acción de monoaminooxidasa sobre su sustrato, es un método sensible y fácil realización. El principio de este método es esencialmente el mismo que el de microdifusión de Conway y Byrne (50), en el cual el amoniaco liberado de la solución alcalina puede difundirse dentro de un compartimento cerrado a una vasija que contiene ácido. En la técnica de Braganca y sus colaboradores, la reacción enzimática y la difusión del amoniaco se realizan en una vasija del aparato manométrico de Warburg, y se determina el amoniaco volumetricamente.

2.- Métodos colorimétricos y espectrofotométricos para la determinación de aldehidos.

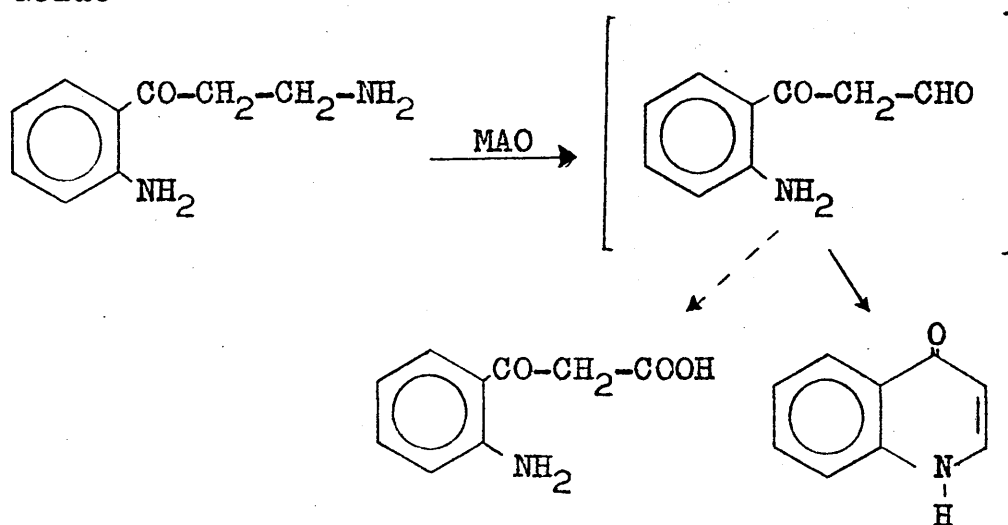
En estos métodos se utilizan como sustratos aminas biologicamente activas, como tiramina, adrenalina, serotonina, quinureninamina, etc., procediendo a la determinación del aldehido formado por procedimientos colorimétricos, espectrofotométricos o fluorimétricos.

Uno de los mejores métodos basado en la determinación del aldehído formado, es el descrito por Green y Haughton (44, 51) usando tiramina como sustrato, en presencia de semicarbazida. El aldehído que se forma en la reacción enzimática, se fija como semicarbazona, la cual se convierte en la 2,4-dinitrofenil hidrazona, que se extrae con benceno y se valora por colorimetría. Este procedimiento ha sido adaptado al ensayo de inhibidores de MAO por el mismo Green (52).

El método espectrofotométrico de Weissbach (45), utiliza quinureninamina como sustrato, la cual se transforma en 4-hidroxiquinoleína.



La monoaminooxidasa degrada probablemente la quinureninamina al correspondiente aldehído, el cual experimenta una condensación intramolecular, espontánea, para dar 4-hidroxiquino-
leína. En presencia de aldehído oxidasa pasa al correspondien-
te ácido



3.- Método manométrico.

Este método que utiliza un aparato Warburg, mide el oxígeno consumido por la reacción. Tiene la ventaja de que puede utilizarse para cualquier sustrato y es adaptable al ensayo de cualquier inhibidor, aunque este sea oxidable, si se realiza en presencia de un blanco adecuado.

La aplicación de este método ha sido muy criticada por algunos investigadores como Green y Haughton (44, 51), ya que puede conducir a resultados erróneos. A ello pueden contribuir fundamentalmente dos causas: de una parte que el método es relativamente poco sensible y exige concentraciones de enzima y sustrato relativamente altas si se compara con otras técnicas, como las espectrofotométricas. Por otra parte, puede haber un consumo apreciable de oxígeno, debido no sólo a la reacción catalizada por MAO, sino también a otras reacciones catalizadas por oxidasas con sustratos endógenos. Aunque es posible evitar este consumo extra de oxígeno por adición de cianuro y semicarbazida a la muestra (53, 54), estos últimos compuestos pueden ocasionalmente complicar considerablemente la interpretación de los resultados obtenidos. No obstante, Creasy (40) ha estudiado con mucho detalle el método manométrico, utilizando tiramina como sustrato, en presencia de cianuro potásico y semicarbazida a concentraciones bien definidas. Bajo estas condiciones solamente parecen ser activas monoaminooxidasa y catalasa, se inhiben oxidaciones espontáneas, catalizadas por otras oxidasas, y se absorbe el oxígeno en la proporción de un átomo por molécula de tiramina desaminada. La tiramina se oxida rápidamente, y el oxígeno consumido crece linealmente en los primeros 30 minutos, siendo también directamente proporcional a la concentración de enzima.

Bajo las condiciones definidas por este autor, que

son las utilizadas por nosotros, el método da resultados correctos y reproducibles. Por otra parte, este método es de aplicación general y sin duda el más utilizado en el ensayo de inhibidores de la enzima.

4.- Métodos espectrofotométricos.

a) Método para la determinación de la actividad de MAO y su inhibición según Zeller, Ramachander y Zeller (55).

Este método está basado en la gran velocidad de degradación de m-iodobencilamina y en la fuerte absorbancia a 253 nm del iodobenzaldehído formado por la acción de MAO sobre m-iodobencilamina. Este producto primario de la reacción no parece sufrir oxidación adicional por oxidorreductasas. Cuando se probaron homogeneizados solubilizados, se obtuvieron curvas de reacción bien definidas durante el primer minuto de incubación, entre la concentración enzimática y el incremento de absorbancia, y entre la velocidad de reacción y el recíproco de las concentraciones de sustrato. Este procedimiento ha sido empleado por estos autores para la determinación de concentraciones de MAO en hígado y cerebro de varias especies.

b) Método para la determinación de actividad de MAO según Dietrich y Erwin (56).

Este método está basado en el alto valor de ϵ del p-dimetilaminobenzaldehído producido en la reacción enzimática a partir de p-dimetilaminobencilamina. El producto de reacción tiene un máximo a 352-353 nm con alto $\epsilon \sim 2,77 \cdot 10^4$. El sustrato no tiene absorción en esta zona.

Existen otros métodos espectrofotométricos que aquí no exponemos por no ser de interés en nuestro trabajo.

5.- Elección del método de trabajo.

Creemos suficiente el breve comentario anterior para poner de manifiesto la gran diversidad de métodos disponibles para la determinación de monoaminooxidasas. Algunos de ellos, particularmente ciertos métodos espectrofotométricos y espectrofluorimétricos, son muy sensibles y su empleo resulta prácticamente obligado en estudios de cinéticas y mecanismos de reacción, cuando las variables del sistema no son generalmente otras que las de concentraciones de unos reactivos fijos. En nuestro caso se trata de estudiar la inhibición global de la reacción catalizada por la enzima por productos de estructura variable con uno o más sustratos. En este sentido y con gran ventaja sobre todos los demás, los métodos de empleo más frecuente son la determinación manométrica del oxígeno consumido en la reacción y, menos frecuentemente, la determinación del amoniaco producido. La disponibilidad de la técnica manométrica, puesta a punto en el laboratorio en que se realizó nuestro trabajo, y la experiencia ya adquirida en el mismo sobre ensayos con inhibidores muy diversos, fueron factores decisivos en la elección de este método, que describimos a continuación en sus aspectos esenciales.

PARTE EXPERIMENTAL

1.- Preparación de la enzima.

La enzima ha sido preparada a partir de hígado de vaca congelado, que se trituró y suspendió en sacarosa 0,25 M pH 7,2-7,4. A continuación se homogeneizó en un aparato Sorvall durante dos minutos en fracciones de 15 segundos, para evitar el calentamiento. La suspensión obtenida se diluyó hasta un volumen aproximadamente igual a lo veces el peso de hígado inicial con sacarosa 0,25 M pH 7,2-7,4. La suspensión se centrifugó en una centrifuga Sorvall a 2000 rpm durante 7 minutos. El sedimento se deshechó, y el sobrenadante se centrifugó nuevamente a 2000 rpm durante 5 minutos, deshechando por segunda vez el sedimento. El sobrenadante obtenido se centrifugó a 9250 rpm durante 30 minutos. Se deshechó el sobrenadante y el sedimento se resuspendió en tampón de fosfato potásico 0,1 M pH 7,2. Esta suspensión se centrifugó a 9250 rpm durante 20 minutos. Se deshechó el sobrenadante y el sedimento se suspendió nuevamente en tampón de fosfato potásico 0,1 M pH 7,2, centrifugándose la suspensión resultante a 9250 rpm durante 30 minutos. Por último, el sedimento total obtenido se suspendió en tampón de fosfato potásico 0,1 M pH 7,2. Esta suspensión se conserva a temperatura de 0-5°C sin pérdida apreciable de actividad durante largo tiempo.

Todas las centrifugaciones han sido realizadas a una temperatura de 0-2°C.

Los ensayos de inhibición han sido realizados determinando la actividad enzimática por el método manométrico (57)

con tiramina como sustrato según Creasy (40) y en algunos casos con serotonina como sustrato. La enzima ha sido preincubada con el inhibidor durante 20 minutos antes de la adición del sustrato, en presencia de aire a 37°C. Los valores de PI_{50} han sido determinados gráficamente.

2.- Determinación manométrica de monoaminooxidasa y ensayo de inhibidores.(57).

Se ha utilizado el método descrito por Creasy (40) con tiramina como sustrato y en algunos casos se ha utilizado serotonina como sustrato, empleando un respirométero Warburg de la casa B. Braun Melsungen (West Germany).

Los manómetros se cargaron con solución Brodie (*) y se utilizaron vasitos de 15 ml. con tubo lateral y una celula central. Tanto los vasitos como los manómetros se calibraron con mercurio bidestilado. La constante K_{O_2} para cada pareja manómetro-vaso se calculó por la ecuación² (I) (57).

$$K_{O_2} = \frac{V_g \frac{273}{T} + \alpha V_f}{P_o} \quad (I)$$

V_f = volumen total de la fase líquida en los vasitos = 2,6 ml.

V_g = volumen total de la fase gaseosa = $V - V_f$.

V = volumen para cada pareja manómetro-vaso, determinado por calibrado con mercurio bidestilado.

T = temperatura en °K a la que se realizan las experiencias.

α = coeficiente de solubilidad del O_2 en el medio de reacción a 37°C = 0,024 ml. de gas/ml.

P_o = valor de una atmósfera en la solución Brodie: 10000 mm = 760 mm de mercurio a 37°C.

*Brodie's Solution Type TF II A-Th.B. Braun Apparetebau Melsungen (West Germany).

La actividad de MAO se mide manométricamente a 37°C mediante la absorción de oxígeno durante la desaminación del sustrato en presencia de semicarbazida 10^{-2} M y de cianuro potásico 10^{-3} M. Bajo estas condiciones, sólo MAO y catalasa parecen ser activas y el oxígeno se absorbe en la proporción de un átomo por molécula de sustrato degradada (40).

El sustrato se oxida rápidamente y la cantidad de oxígeno absorbida es lineal durante al menos los primeros 30 minutos de la reacción, siendo la velocidad de ésta directamente proporcional a la concentración de MAO.

Se han utilizado los siguientes reactivos:

1.- Tampón de fosfato potásico 0,25 M, pH 7,2. Se mezclan soluciones 0,25 M de fosfato mono- y dipotásico para dar pH 7,2 en un medidor de pH Beckman.

2.- Soluciones 0,01 M de cianuro potásico y 2 M de hidróxido potásico.

3.- Solución de hidrocloreuro de semicarbazida 0,1 M pH 7. Se prepara como sigue:

2,94 g. de hidrocloreuro de semicarbazida (Fluka AG. Buchs, Suiza) en 200 ml de agua destilada, se ajusta con solución de hidróxido potásico hasta pH 7, se diluye a 250 ml. y se filtra.

4.- Solución de hidrocloreuro de tiramina 0,1 M pH 7. Se prepara como sigue:

0,4337 g. de hidrocloreuro de tiramina (Fluka AG. Buchs, Suiza) en 20 ml. de agua destilada, se ajusta con solución de hidróxido potásico hasta pH 7 y se diluye a 25 ml.

5.- Solución de creatininsulfato de serotonina (Fluka AG. Buchs Suiza) en 5 ml. de agua destilada, se ajusta con solución de hidróxido potásico hasta pH 7 y se diluye a 10 ml..

Solución de MAO que se prepara diluyendo con tampón de fosfato potásico 0,05 M pH 7, para que presente una actividad adecuada, la preparación descrita en la página 111.

Por último en el vasito se pipetea las siguientes sustancias:

- a.- 0,25 ml. de tampón fosfato potásico 0,25 M pH 7,2.
- b.- 0,25 ml. de solución de hidrocloreuro de semicarbazida 0,1 M
- c.- 1,00 ml. de solución o suspensión de enzima.
- d.- 0,50 ml. de agua destilada (o solución de inhibidor).
- e.- 0,25 ml. de solución de cianuro potásico 0,01 M.

En el tubo lateral de cada vaso se pipetea 0,25 ml. hidrocloreuro de tiramina 0,1 M (o en su caso 0,25 ml. de solución de creatininsulfato de serotonina 0,1 ó 0,01 M) o agua destilada en los blancos.

En la célula central de cada vaso se pipetea 0,10 ml. de solución de hidróxido potásico 2 M, sobre un cm^2 de papel de filtro, cuya misión es facilitar la absorción del posible CO_2 presente en el sistema. El volumen total de líquido en cada vaso era de 2,60 ml.

En las medidas de actividad de inhibidores se sustituyen los 0,50 ml. de agua destilada del vasito por 0,10 ml. de solución de inhibidor y 0,40 ml. de agua.

Una vez llenos los vasitos se colocan en su correspondiente manómetro y se introducen en el baño termostático a 37°C . Después de 20 minutos de incubación se vierte en cada vaso el contenido del tubo lateral, y se ajusta la escala manométrica a 150. En el minuto 25 se cierran las llaves de los manómetros y se hace una lectura a tiempo cero, y en intervalos de 2 ó 3 minutos se realizan las demás lecturas hasta un total de 15 ó 16. Una vez acabada la experiencia, cada lectura manométrica se corrige por el cambio de presión habido en un termobarómetro control y se calcula el consumo de O_2 en μl expresándolo en consumo medio de $\text{O}_2/\text{min. en } \mu\text{l}$.

Con la preparación de la enzima descrita en la página 111 se obtienen medidas correctas con una dilución 1:3 con valores de consumo de O_2 hasta de 1,6-1,8 $\mu\text{l}/\text{min}$.

Ensayo de inhibidores de monoaminooxidasas.

Los inhibidores se ensayaron cuando era posible disueltos en agua, pero aquellos que eran insolubles, se ensayaron disueltos en etanol, ya que, en estudios realizados en nuestro laboratorio (58) se comprobó que, aunque el etanol activa la enzima, esta activación es constante entre 1% a 5% de concentración total de etanol, y por otra parte las medidas de pargilina se reproducen tanto disuelta en agua como en etanol.

El método de ensayo es el siguiente:

De cada producto se prepararon disoluciones de $1,25 \cdot 10^{-2}$ M; añadiendo a los vasitos 0,1 ml. de disolución, que corresponde a una concentración de $5 \cdot 10^{-4}$ M de inhibidor en el medio de reacción. Una vez realizadas las medidas con tiramina como sustrato, aquellos productos que mostraron inhibición superior al 60% se volvieron a medir a concentraciones más diluidas, como 10^{-4} , $5 \cdot 10^{-5}$, 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M. En cada caso se calculó el tanto por ciento de inhibición tomando como actividad 100% la de la enzima en condiciones idénticas y sin inhibidor, pero con 0,1 ml. de agua o etanol según los casos. Con estos resultados se dibujaron los correspondientes diagramas representando % de inhibición frente a $pI = -\log I$. De este modo se obtenía el $pI_{50} = -\log I_{50}$, y a partir del pI_{50} se calculó la concentración de inhibidor que produce el 50% de inhibición (I_{50}) bajo las condiciones de ensayo.

Para los compuestos que presentaron parecida actividad que pargilina (N-metil-N-bencil-2-propinilamina) se calculó su actividad relativa X, referida a la pargilina y expresada por:

$$X = \frac{I_{50} \text{ Pargilina}}{I_{50} \text{ Producto}} \cdot 100$$

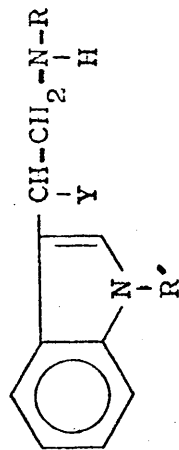
En las Tablas 1 y 2 se resumen las medidas de inhibición de los productos estudiados, frente a monoaminooxidasa particulada de hígado de ternera y con tiramina como sustrato.

Con el fin de conocer el comportamiento de estos compuestos como inhibidores de MAO empleando serotonina como sustrato, se han hecho medidas de inhibición con serotonina a concentraciones de 10^{-2} y 10^{-3} M con algunos de los compuestos que presentaban inhibiciones altas, medias y bajas cuando se empleaba tiramina como sustrato y de esta forma poder estudiar comparativamente los resultados obtenidos en ambos casos.

En la Tabla 3 se dan los resultados de las medidas de inhibición a concentraciones de inhibidor de 5.10^{-4} M frente a monoaminooxidasa particulada de hígado de ternera y siendo el sustrato serotonina.

TABLA 1

Ensayo de los productos preparados, como inhibidores de monoaminooxidasa
Tiramina (0,01 M) como sustrato, pH=7,2



Nº	R	R'	Y	pI ₅₀	(I) ₅₀	X	Observaciones	Disolvente
0	Pargilina	-H	-H	6,5	3,2.10 ⁻⁷	100	----	Agua
1*	-CH ₃	-H	-H	---	---	---	24% a 5.10 ⁻⁴	"
2*	-CH ₂ -CH ₃	-H	-H	---	---	---	12% a 5.10 ⁻⁴	"
3*	-CH ₂ ·(CH ₃) ₂	-H	-H	---	---	---	12% a 5.10 ⁻⁴	"
4*	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-H	-H	---	---	---	1% a 5.10 ⁻⁴	"
5**	-CH ₃	-CH ₃	-H	---	---	---	8% a 5.10 ⁻⁴	"
6**	-CH ₂ -CH ₃	-CH ₃	-H	---	---	---	6% a 5.10 ⁻⁴	"
7**	-CH ₂ ·(CH ₃) ₂	-CH ₃	-H	---	---	---	1% a 5.10 ⁻⁴	"
8**	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-CH ₃	-H	3,85	1,4.10 ⁻⁴	0,20	----	Etanol
9**	-CH ₃	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-H	---	---	---	10% a 5.10 ⁻⁴	"
10**	-CH ₂ -CH ₃	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-H	---	---	---	11% a 5.10 ⁻⁴	"

TABLA 1 (continuación)

Nº	R	R'	Y	pI ₅₀	(I) ₅₀	X	Observaciones	Disolvente
11**	-CH ₂ ·(CH ₃) ₂	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-H	---	---	---	38% a 5.10 ⁻⁴	Agua
12**	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-H	---	---	---	21% a 5.10 ⁻⁴	Etanol
13	-CH ₃	-CH ₃	-OH	---	---	---	5% a 5.10 ⁻⁴	"
14*	-CH ₂ -CH ₃	-CH ₃	-OH	---	---	---	28% a 5.10 ⁻⁴	Agua
15*	-CH ₂ ·(CH ₃) ₂	-CH ₃	-OH	---	---	---	15% a 5.10 ⁻⁴	"
16	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-CH ₃	-OH	---	---	---	14% a 5.10 ⁻⁴	Etanol
17	-CH ₃	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-OH	---	---	---	0% a 5.10 ⁻⁴	"
18	-CH ₂ -CH ₃	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-OH	---	---	---	21% a 5.10 ⁻⁴	"
19	-CH ₂ ·(CH ₃) ₂	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-OH	---	---	---	18% a 5.10 ⁻⁴	"
20	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-OH	---	---	---	21% a 5.10 ⁻⁴	Etanol

(I)₅₀ = Concentración de inhibidor que, bajo las condiciones de ensayo, produce 50 % de inhibición.

$$pI_{50} = -\log (I)_{50} = \frac{1}{(I)_{50}}$$

$$X = \text{Actividad del compuesto referida a Pargilina y expresada por } X = \frac{(I)_{50} \text{ Pargilina}}{(I)_{50} \text{ Producto}} \cdot 100$$

* Hidrobromuro.

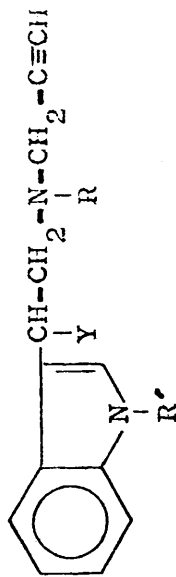
** Oxalato.

*** Maleato.

TABLA 2

Ensayo de los productos preparados, como inhibidores de monoaminooxidasa

Tiramina (0,01 M) como sustrato, pH=7,2



Nº	R	R'	Y	pI ₅₀	(I) ₅₀	X	Observaciones	Disolvente
0	Pargilina			6,5	$3,2 \cdot 10^{-7}$	100	----	Agua
1*	-CH ₃	-H	-H	6,0	10^{-6}	32	----	"
2*	-CH ₂ -CH ₃	-H	-H	4,2	$6,3 \cdot 10^{-5}$	0,50	----	"
3***	-CH ₂ ·(CH ₃) ₂	-H	-H	----	----	----	11% a $5 \cdot 10^{-4}$	"
4*	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-H	-H	----	----	----	59% a $5 \cdot 10^{-4}$	"
5**	-CH ₃	-CH ₃	-H	6,5	$3,2 \cdot 10^{-7}$	100	----	"
6**	-CH ₂ -CH ₃	-CH ₃	-H	4,1	$8,0 \cdot 10^{-5}$	0,40	----	"
7**	-CH ₂ ·(CH ₃) ₂	-CH ₃	-H	----	----	----	1% a $5 \cdot 10^{-4}$	"
8**	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-CH ₃	-H	4,1	$8,0 \cdot 10^{-5}$	0,40	----	"
9**	-CH ₃	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-H	----	----	----	57% a $5 \cdot 10^{-4}$	"
10**	-CH ₂ -CH ₃	-CH ₂ ·C ₆ H ₅	-H	----	----	----	4% a $5 \cdot 10^{-4}$	Etanol

TABLA 2 (continuación)

Nº	R	R'	Y	pI_{50}	$(I)_{50}$	X	Observaciones	Disolvente
11**	$-\text{CH}_2 \cdot (\text{CH}_3)_2$	$-\text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$	-H	---	---	---	20% a $5 \cdot 10^{-4}$	Etanol
12**	$-\text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$	$-\text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$	-H	---	---	---	28% a $5 \cdot 10^{-4}$	"
13	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3$	-OH	---	---	---	51% a $5 \cdot 10^{-4}$	"
14	$-\text{CH}_2 \cdot \text{CH}_3$	$-\text{CH}_3$	-OH	---	---	---	13% a $5 \cdot 10^{-4}$	"
15	$-\text{CH}_2 \cdot (\text{CH}_3)_2$	$-\text{CH}_3$	-OH	---	---	---	0% a $5 \cdot 10^{-4}$	"
16	$-\text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$	$-\text{CH}_3$	-OH	3,9	$1,3 \cdot 10^{-4}$	0,24	----	"
17	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$	-OH	---	---	---	14% a $5 \cdot 10^{-4}$	"
18	$-\text{CH}_2 \cdot \text{CH}_3$	$-\text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$	-OH	---	---	---	18% a $5 \cdot 10^{-4}$	"
19	$-\text{CH}_2 \cdot (\text{CH}_3)_2$	$-\text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$	-OH	---	---	---	24% a $5 \cdot 10^{-4}$	"
20	$-\text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$	$-\text{CH}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5$	-OH	---	---	---	44% a $5 \cdot 10^{-4}$	"

$(I)_{50}$ = Concentración de inhibidor que, bajo las condiciones de ensayo, produce 50% de inhibición.

$$pI_{50} = -\log (I)_{50} = \frac{1}{(I)_{50}}$$

$$X = \text{Actividad del compuesto referida a Pargilina y expresada por: } X = \frac{(I)_{50} \text{ Pargilina}}{(I)_{50} \text{ Producto}} \cdot 100$$

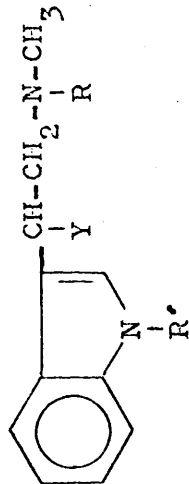
*Hidrobromuro

**Oxalato

***Maleato

TABLA 3

Ensayo de los productos preparados, como inhibidores de monoaminooxidasa
Serotonina como sustrato, pH = 7,2.



No	R	R'	Y	Inhibición % (S=10 ⁻² M)	Inhibición % (S=10 ⁻³ M)	Disolvente
0	Pargilina			72 a 5.10 ⁻⁴ M	42 a 5.10 ⁻⁴ M	Agua
1**	-H	-CH ₂ .C ₆ H ₅	-H	44 a 5.10 ⁻⁴ M	27 a 5.10 ⁻⁴ M	Etanol
2*	-H	-H	-H	24 a 5.10 ⁻⁴ M	13 a 5.10 ⁻⁴ M	Agua
3*	-H	-CH ₃	-H	6 a 5.10 ⁻⁴ M	5 a 5.10 ⁻⁴ M	"
4*	-CH ₂ -C≡CH	-H	-H	81 a 5.10 ⁻⁴ M	57 a 5.10 ⁻⁴ M	"
5**	-CH ₂ -C≡CH	-CH ₃	-H	56 a 5.10 ⁻⁴ M	38 a 5.10 ⁻⁴ M	"
6	-CH ₂ -C≡CH	-CH ₃	-OH	55 a 5.10 ⁻⁴ M	35 a 5.10 ⁻⁴ M	Etanol
7**	-CH ₂ -C≡CH	-CH ₂ .C ₆ H ₅	-H	48 a 5.10 ⁻⁴ M	23 a 5.10 ⁻⁴ M	Agua

*Hidrobromuro

**Oxalato

S = Serotonina

COMENTARIO DE LOS RESULTADOS Y DISCUSION DE RELACIONES
ESTRUCTURA-ACTIVIDAD

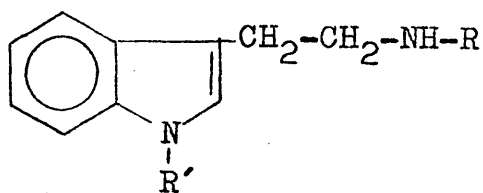
Las Tablas 1,2 y 3 muestran los resultados de los ensayos de inhibición de todos los productos estudiados, bajo las condiciones de medida detalladas en el apartado anterior de este capítulo. En ellas se hacen constar los valores experimentales de pI_{50} y calculados de I_{50} (concentración de inhibidor que produce 50% de inhibición, bajo las condiciones de ensayo) y de X (actividad relativa a la pargilina, expresada en %), para algunos de los compuestos más activos, y simplemente % de inhibición para los compuestos menos activos.

Una revisión bibliográfica de datos y condiciones relativas a un inhibidor de MAO tan bien conocido como la pargilina (11) pone de relieve que el valor de I_{50} dado, depende no sólo del sustrato, pH y otras variables, sino del método de medida empleado. Más aún, incluso para un mismo método y condiciones, se registran valores bastante diferentes. Así por ejemplo, Maitre (59) da para pargilina $I_{50}=6,8.10^{-7}$ M con tiramina como sustrato y empleando el método manométrico; Halliday y col. (60) encuentran con el mismo sustrato y técnica colorimétrica $I_{50}=4.10^{-8}$ y Neumeyer y col. (21) $I_{50}=1,7.10^{-7}$ mientras que con serotonina como sustrato Swett y col. (61) dan $I_{50}=9.10^{-7}$ M.

Como consecuencia, es claro que difícilmente pueden considerarse comparables datos de inhibición para diferentes productos, obtenidos por diferentes autores, aún empleando aparentemente el mismo sustrato, el mismo método de ensayo y la misma fuente de enzima (12). Las razones de esta injustifi

cada anomalía son desconocidas, pero acaso tengan mucho que ver, independientemente de los errores involuntarios posibles, de la aparente heterogeneidad de la MAO de diferentes tejidos y aún de un mismo tejido. Hay bases suficientes para admitir la existencia de isoenzimas para MAO de un mismo tejido con especificidad, sensibilidad a diferentes inhibidores y otras propiedades diferentes (6, 7, 12). Así pues, mientras no sea posible disponer de preparados de la enzima o enzimas con garantías de homogeneidad, sólo cabe hacer comparación entre resultados de un mismo laboratorio, obtenidos con la misma preparación enzimática y bajo condiciones de ensayo idénticas. Por ello, renunciamos a comparar nuestros resultados con datos de otros autores para diferentes propinilaminas estudiadas y nos limitamos a considerar nuestros propios resultados, comparándolos con la pargilina, tomada como referencia, e incluida en nuestros ensayos.

Las Tablas 1 y 2 muestran los resultados con tiramina $10^{-2}M$, pH=7,2 para las diversas indolilpropinilaminas ensayadas. La Tabla 1 incluye los resultados con aminas secundarias de fórmula general (LIV). Todas ellas son inhibidores relativamente débiles, lo cual sugiere baja afinidad relativa del sistema indólico para la enzima. Tampoco se observa un efecto significativo por lo que se refiere al radical R de la cadena lateral, pues si bien la actividad máxima se obtiene para $R=CH_3$ en las series en que $R'=H, CH_3$, cuando $R'=C_6H_5 \cdot CH_2-$ se obtiene con $R'=(CH_3)_2CH-$



LIV

Tabla 1

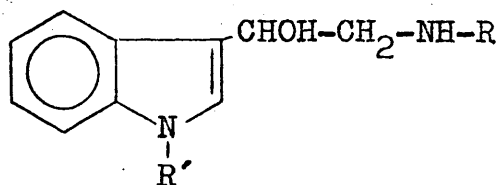
$R = CH_3; C_2H_5; (CH_3)_2CH;$

$C_6H_5 \cdot CH_2$

$R' = H; CH_3; C_6H_5 \cdot CH_2$

Así pues, el radical óptimo R en la cadena lateral es variable según cual sea el esqueleto indólico. Así mismo, la variación estructural de R' en esta serie de aminas secundarias, manteniendo R constante no parece que tenga un valor muy significativo. Según el resto de la estructura, la N sustitución del indol por CH_3 ó $\text{C}_6\text{H}_5\cdot\text{CH}_2$, mantiene, aumenta o disminuye ligeramente la actividad de los compuestos. En conjunto parece ligeramente favorable la N sustitución por CH_3 y desfavorable por $\text{C}_6\text{H}_5\cdot\text{CH}_2$.

La inclusión de un grupo OH en la cadena de etilamina para dar los compuestos de fórmula general (LIII) (Tabla 1)



LIII

Tabla 1

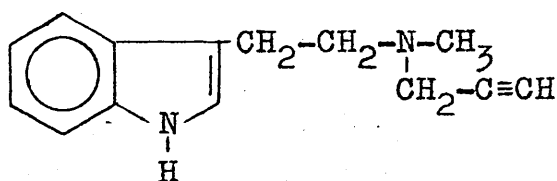
R = CH_3 ; C_2H_5 ; $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$;
 $\text{C}_6\text{H}_5\cdot\text{CH}_2$
 R' = CH_3 ; $\text{C}_6\text{H}_5\cdot\text{CH}_2$

no modifica en nada las condiciones anteriores. Todos estos productos muestran relativamente bajo poder inhibidor, comparable a los de fórmula general (LIV). En realidad, esta situación era de esperar, pues los productos carecen del grupo propinilamina, responsable en particular de la inhibición por pargilina (12).

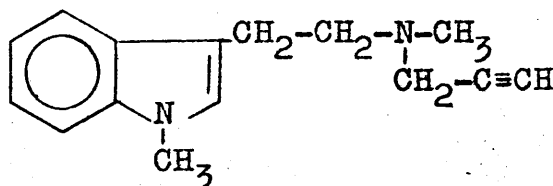
La inclusión del grupo propinilo en los compuestos en general aumenta significativamente el poder inhibidor, como muestra la Tabla 2, pero también ocasionalmente a veces no cambia o incluso disminuye. Así, los compuestos nº 3 de las Tablas 1 y 2 dan la misma actividad, mientras que para los compuestos con nº 11 de las mismas Tablas, la amina terciaria con grupo propinilo es significativamente menos activa que la secundaria. Es decir, que la inclusión del grupo propinilo,

al que corrientemente se atribuye la capacidad de inhibición irreversible de MAO por la pargilina, en los compuestos que estudiamos muestra efectos muy variables según la estructura del resto de la molécula, si bien, en la mayor parte de los casos aumenta la actividad.

Los compuestos más activos, con una diferencia importante sobre todos los demás han sido los siguientes:



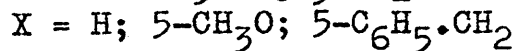
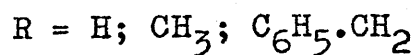
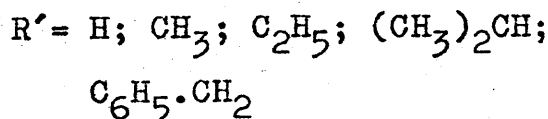
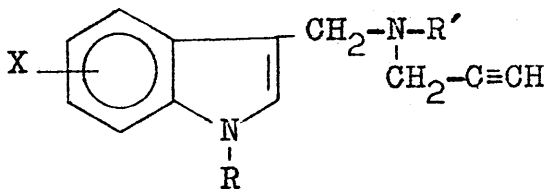
(1, Tabla 2)



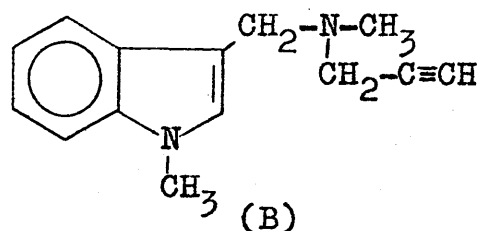
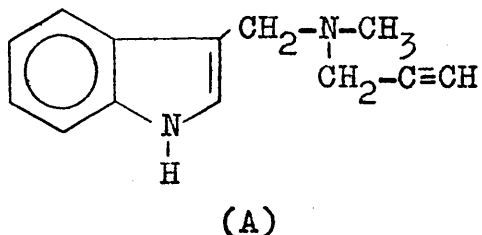
(5, Tabla 2)

cuyas actividades relativas a pargilina son de 32% y 100%, respectivamente, lo que las hace comparables a aquella en cuanto a poder inhibidor in vitro.

También es interesante comparar los resultados obtenidos por nosotros, con los de una serie análoga estudiada en nuestro laboratorio por J. M. Martínez (29) y representada por la fórmula general siguiente:



También aquí los compuestos más activos, con gran diferencia sobre todos los demás han sido los de fórmulas (A) y (B), cuyas actividades relativas a la pargilina, bajo condiciones idénticas de ensayo a las empleadas por nosotros, fueron de



62% y 75%, respectivamente. De nuevo se observa aquí que, la N sustitución del NH indólico por CH_3 es ligeramente favorable, mientras que la sustitución por $\text{C}_6\text{H}_5\cdot\text{CH}_2$ fue, como en nuestro caso, muy desfavorable.

Para terminar queremos comentar brevemente los resultados obtenidos en el ensayo de nuestros productos con serotonina como sustrato, con la misma enzima y bajo todas las demás condiciones idénticas a las empleadas en los ensayos con tiramina como sustrato. Los resultados obtenidos con unos pocos de los productos estudiados se muestran en la Tabla 3.

Sorprendentemente, incluida la pargilina misma, la actividad inhibidora es mucho menor con serotonina que con tiramina como sustrato, para una misma concentración 10^{-2} M de sustrato y $5\cdot 10^{-4}$ M de inhibidor. Los hechos apuntan a una inhibición más selectiva de la enzima en nuestro sistema de la desaminación de catecolaminas que de indoletilaminas, pese a que los compuestos que estudiamos son como la serotonina, derivados indólicos, exceptuando la pargilina.

Por ahora es prácticamente imposible dar una explicación a estos hechos. Habría que saber si de hecho, tal como se ha publicado y hemos comentado al principio de esta discusión, las preparaciones de MAO particulada de hígado de vacuno contiene realmente varias isoenzimas, con diferente especificidad de sustrato y de inhibidor, y conocer, para cada isoenzima e inhibidor el mecanismo de la inhibición. Todo ello, hoy por hoy, no es fácilmente realizable, puesto que

los preparados de enzima particulada que se vienen empleando constituyen un sistema complejo, que sólo parcialmente ha sido solubilizado y parcialmente purificado.

Así mismo, en la interpretación de resultados, había que tener en cuenta que, cuantitativamente, las inhibiciones de una enzima bien definida, y la monoaminooxadasa ni siquiera lo es, con un mismo inhibidor y diferentes sustratos, no tiene por qué ser la misma, ya que depende del mecanismo de acción del inhibidor.

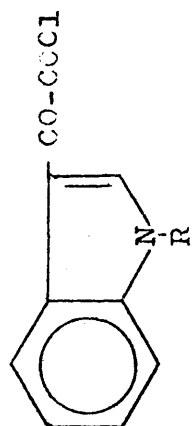
Todo esto no podrá ser aclarado en tanto no se disponga de preparaciones purificadas y bien definidas de monoaminooxidasas, y en su caso de las diferentes isoenzimas que diversos autores indican, lo cual no parece vaya a resolverse a corto plazo.

Las actividades in vitro de los compuestos 1 y 5 de la Tabla 2, son suficientemente significativos respecto a la pargilina, para que estos compuestos sean objeto de un estudio in vivo en relación con sus actividades en la desaminación oxidativa de catecolaminas y serotonina y de sus actividades antidepresivas previsibles.

PARTE IV

TABLAS EXPERIMENTALES DE CONSTANTES Y DATOS
DE ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNETICA
NUCLEAR

Tabla I




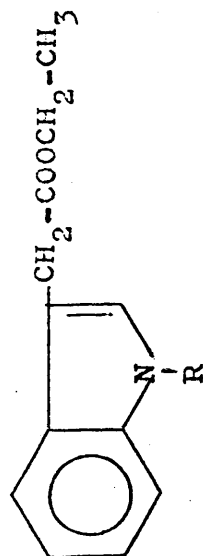
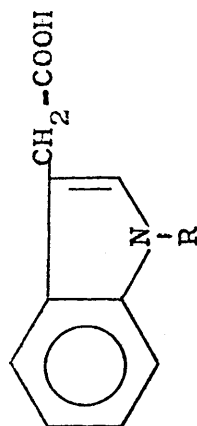
Nº	R	Valores τ	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	H	2,60 2,40 1,70 1,55 -2,50	multiplete multiplete multiplete doblete señal ancha	2H H_5-H_6 indol 1H H_7 " 1H H_4 " 1H H_2 " 1H -NH-	DMSO
2	-CH ₃	6,12 2,60 1,65 1,15	singlete multiplete multiplete singlete	3H $\underline{CH_3-N}$ 3H $H_5-H_6-H_7$ indol 1H H_4 " 1H H_2 "	CDCl ₃
3	 -CH ₂ -	4,60 2,55 1,60 1,00	singlete multiplete multiplete singlete	2H $\underline{CH_2-N}$ 8H $H_5-H_6-H_7$ indol y C_6H_5 1H H_4 " 1H H_2 "	CDCl ₃

Tabla II



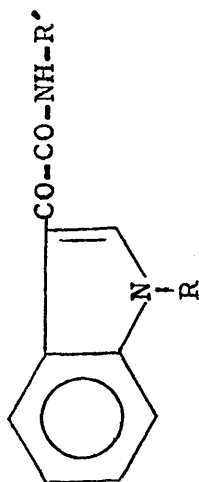
Nº	R	Valores z	Multiplidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	CH ₃	8,78 6,31 6,27 5,85 2,87 2,75 2,37	triplete J=7,7 singlete singlete cuartete J=7,7 singlete multiplete multiplete	CH ₃ -CH ₂ CH ₂ -CO CH ₃ -N CH ₂ -CH ₃ H ₂ indol H ₅ -H ₆ -H ₇ " H ₄ "	CDCl ₃
2		8,80 6,25 5,85 4,75 2,75 2,40	triplete J=6,6 singlete cuartete J=6,6 singlete multiplete multiplete	CH ₃ -CH ₂ CH ₂ -CO CH ₂ -CH ₃ CH ₂ -C ₆ H ₅ H ₅ -H ₆ -H ₇ -H ₂ indol y C ₆ H ₅ H ₄ "	CDCl ₃

Tabla III



Nº	R	Valores τ	Multiplidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	-CH ₃	6,35 6,25 3,01 2,75 2,40 -1,35	singlete singlete singlete multiplete multiplete señal ancha	3H $\overline{\text{CH}_3-\text{N}}$ 2H CH_2-CO 1H H ₂ indol 3H H ₅ -H ₆ -H ₇ " 1H H ₄ " 1H COOH	CDCl ₃
2		6,20 4,75 2,90 2,75 2,40 0,90	singlete singlete singlete multiplete multiplete señal ancha	2H CH_2-CO 2H $\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ 1H H ₂ indol 8H H ₅ -H ₆ -H ₇ " y C ₆ H ₅ 1H H ₄ 1H COOH	CDCl ₃

Tabla IV



Nº	R	R'	Valores τ	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	-H	-CH ₃	7,15 2,53 1,60 1,25 1,05 -2,33	doblete multiplete multiplete señal ancha singlete señal ancha	3H <u>CH</u> ₃ -NH 3H H ₅ -H ₆ -H ₇ indol 1H H ₄ " 1H <u>NH</u> -CH ₃ 1H H ₂ indol 1H <u>NH</u> indol	DMSO
2	-H	-CH ₂ -CH ₃	8,83 6,63 2,75 1,70 1,15 1,25	triplete J=6 cuartete J=6 multiplete multiplete doblete señal ancha	3H <u>CH</u> ₃ -CH ₂ 2H <u>CH</u> ₂ -CH ₃ 3H H ₅ -H ₆ -H ₇ indol 1H H ₄ " 1H H ₂ " 1H <u>NH</u> -CO	DMSO

Tabla IV (continuación)

Nº	R	R'	Valores z	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
3	-H	$\begin{array}{c} \text{-CH-CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	8,82	doblete J=6	6H $\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	DMSO
			5,95	multiplete	1H CH-NH	
			2,60	multiplete	3H $\text{H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ indol	
			1,70	multiplete	1H H_4 "	
			1,50	señal ancha	1H NH-CO	
			1,20	singlete	1H H_2 "	
4	-H	$\begin{array}{c} \text{-CH}_2\text{-} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	5,55	doblete	2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$	DMSO
			2,70	multiplete	8H $\text{H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ indol y C_6H_5	
			1,75	multiplete	1H H_4 "	
			1,25	singlete	1H H_2 "	
			0,75	señal ancha	1H NH-CO	
5	-CH ₃	-CH ₃	7,05	doblete	3H $\text{CH}_3\text{-NH}$	CDCl ₃
			6,12	singlete	3H $\text{CH}_3\text{-N}$	
			2,65	multiplete	3H $\text{H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ indol	
			1,55	multiplete	1H H_4 "	

Tabla IV (continuación)

Nº	R	R'	Valores τ	Multipl. y Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
5			1,00	singlete	1H H ₂ indol	CDCl ₃
6	-CH ₃	-CH ₂ -CH ₃	8,80	triplete J=6,6	3H $\overline{\text{CH}_3\text{-CH}_2}$	CDCl ₃
			6,65	cuartete J=6,6	2H $\overline{\text{CH}_2\text{-CH}_3}$	
			6,20	singlete	3H $\overline{\text{CH}_3\text{-N}}$	
			2,65	multiplete	3H H ₅ -H ₆ -H ₇ indol	
			1,60	multiplete	1H H ₄ "	
			1,00	singlete	1H H ₂ "	
7	-CH ₃	$\begin{array}{c} \text{-CH-CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	8,75	doblete J=6,6	6H $\overline{\text{CH}_3\text{-CH}} \begin{array}{c} \\ \text{CH}_3 \end{array}$	CDCl ₃
			6,15	singlete	3H $\overline{\text{CH}_3\text{-N}}$	
			5,90	multiplete	1H $\overline{\text{CH-NH}}$	
			2,65	multiplete	3H H ₅ -H ₆ -H ₇ indol	
			1,55	multiplete	1H H ₄ "	
			1,00	singlete	1H H ₂ "	
8	-CH ₃	$\begin{array}{c} \text{-CH}_2\text{-} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	6,20	singlete	3H $\overline{\text{CH}_3\text{-N}}$	CDCl ₃
			5,45	doblete	2H $\overline{\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5}$	
			2,70	multiplete	8H H ₅ -H ₆ -H ₇ indol y C ₆ H ₅	

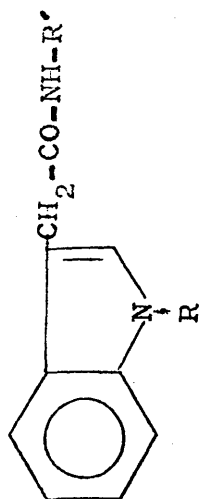
Tabla IV (continuación)

Nº	R	R'	Valores z	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
8			2,05 1,60 1,00	señal ancha multiplete singlete	1H NH-CO 1H H ₄ indol 1H H ₂ "	
9	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_3$		7,05 4,62 2,75 1,55 0,90	doblete singlete multiplete multiplete singlete	3H CH_3-NH 2H $\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ 8H H ₅ -H ₆ -H ₇ indol y C ₆ H ₅ 1H H ₄ " 1H H ₂ "	CDCl ₃
10	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_3$		8,80 6,70 4,70 2,75 1,55 0,90	triplete J=6,6 multiplete singlete multiplete multiplete singlete	3H CH_3-CH_2 2H CH_2-NH 2H $\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ 8H H ₅ -H ₆ -H ₇ indol y C ₆ H ₅ 1H H ₄ " 1H H ₂ "	CDCl ₃

Tabla IV (continuación)

Nº	R	R'	Valores τ	Multipl. y Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
11			8,80 5,90 4,70 2,75 1,55 0,90	doblete J=6,6 multiplete singlete multiplete multiplete singlete	6H $\text{CH}_3\text{-CH}$ 1H CH-NH 2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ 8H $\text{H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ indol " $\gamma \text{ C}_6\text{H}_5$ " " H_4 " " H_2 "	CDCl ₃
12			5,45 4,62 2,67 2,15 1,55 0,88	doblete singlete multiplete señal ancha multiplete singlete	2H $\text{CH}_2\text{-NH}$ 2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ 13H $\text{H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ indol " $\gamma (\text{C}_6\text{H}_5)_2$ " 1H NH 1H H_4 indol 1H H_2 "	CDCl ₃

Tabla V



Nº	R	R'	Valores τ	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	-CH ₃	-CH ₃	7,30 6,30 6,20 4,30 3,00 2,75 2,45	doblete singlete singlete señal ancha singlete multiplete multiplete	3H CH ₃ -NH 2H CH ₂ -CO 3H CH ₃ -N 1H NH 1H H ₂ indol 3H H ₅ -H ₆ -H ₇ " 1H H ₄ "	CDCl ₃
2	-CH ₃	-CH ₂ -CH ₃	9,00 6,80 6,30 6,25 4,20 3,00 2,75 2,45	triplete J=6,6 multiplete singlete singlete señal ancha singlete multiplete multiplete	3H CH ₃ -CH ₂ 2H CH ₂ -NH 2H CH ₂ -CO 3H CH ₃ -N 1H NH 1H H ₂ indol 3H H ₅ -H ₆ -H ₇ " 1H H ₄ "	CDCl ₃

Tabla V (continuación)



Nº	R	R'	Valores Z	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
3	-CH ₃	-CH-CH ₃ CH ₃	9,00	doblete J=6	6H CH ₃ -CH CH ₃	CDCl ₃
			6,32	singlete	2H CH ₂ -CO	
			6,24	singlete	3H CH ₃ -N	
			5,90	multiplete	1H CH-NH	
			4,40	señal ancha	1H NH	
			3,00	singlete	1H H ₂ indol	
			2,75	multiplete	3H H ₅ -H ₆ -H ₇ "	
			2,40	multiplete	1H H ₄ "	
4	-CH ₃	-CH ₂ - 	6,28	singlete	5H CH ₃ -N y CH ₂ -CO	CDCl ₃
			5,65	doblete	2H CH ₂ -C ₆ H ₅	
			3,90	señal ancha	1H NH	
			3,00	singlete	1H H ₂ indol	
			2,75	multiplete	8H H ₅ -H ₆ -H ₇ "	
			2,45	multiplete	1H H ₄ "	
5	-CH ₂ - 	-CH ₃	7,30	doblete	3H CH ₃ -NH	CDCl ₃
			6,30	singlete	2H CH ₂ -CO	

Tabla V (continuación)



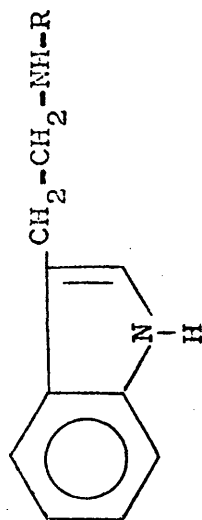
Nº	R	R'	Valores τ	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
5			4,70 4,20 2,90 2,70 2,40	singlete señal ancha singlete multiplete multiplete	2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ 1H NH 1H H_2 indol 8H $\text{H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ " y C_6H_5 1H H_4 "	
6	$\text{-CH}_2\text{-}$ 	$\text{-CH}_2\text{-CH}_3$	8,98 6,80 6,30 4,70 4,20 2,93 2,75 2,45	triplete J=6 multiplete singlete singlete señal ancha singlete multiplete multiplete	3H $\text{CH}_3\text{-CH}_2$ 2H $\text{CH}_2\text{-NH}$ 2H $\text{CH}_2\text{-CO}$ 2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ 1H NH 1H H_2 indol 8H $\text{H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ " y C_6H_5 1H H_4 "	CDCl_3
7	$\text{-CH}_2\text{-}$ 	-CH-CH_3 CH_3	9,00	doblete J=6	6H $\text{CH}_3\text{-CH}$ CH_3	CDCl_3

Tabla V (continuación)

Nº	R	R'	Valores τ	Multipl. Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
7			6,30 5,90 4,68 2,90 2,75	singlete multiplete singlete singlete multiplete	2H $\text{CH}_2\text{-CO}$ 1H CH-NH 2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ 1H H_2 indol 8H $\text{H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ y C_6H_5 "	
			2,40	multiplete	1H H_4 "	
8	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-$	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-$	6,20 5,63 4,70 3,90 2,90 2,75	singlete doblete singlete señal ancha singlete multiplete	2H $\text{CH}_2\text{-CO}$ 2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ 2H $\text{CH}_2\text{-N}$ 1H NH 1H H_2 indol 13H $\text{H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ y $(\text{C}_6\text{H}_5)_2$ "	CDCl_3
			2,40	multiplete	1H H_4 "	

Tabla VI

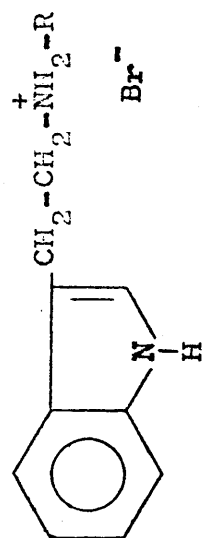


Nº	R	Valores τ	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	-CH ₃	8,85 7,65 7,10 3,00 2,78 2,30 0,90	señal ancha singlete singlete singlete multiplete multiplete señal ancha	1H NH-CH ₃ 3H CH ₃ -NH 4H CH ₂ -CH ₂ 1H H ₂ indol 3H H ₅ -H ₆ -H ₇ " 1H H ₄ " 1H NH "	CDCl ₃
2	-CH ₂ -CH ₃	8,90 8,80 7,30 7,00 3,00 2,75 2,30	triplete J=6,6 señal ancha cuartete J=6,6 singlete doblete multiplete multiplete	3H CH ₃ -CH ₂ 1H NH-CH ₂ 2H CH ₂ -CH ₃ 4H CH ₂ -CH ₂ 1H H ₂ indol 3H H ₅ -H ₆ -H ₇ " 1H H ₄ "	CDCl ₃

Tabla VI (continuación)

Nº	R	Valores Z	Multiplícidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
2		0,90	señal ancha	1H NH indol	
3	-CH-CH ₃ CH ₃	8,95	dobleto J=6	6H CH ₃ -CH CH ₃	CDCl ₃
		7,15	cuartete J=6	1H CH-NH	
		6,97	singlete	4H CH ₂ -CH ₂	
		3,00	dobleto	1H H ₂ indol	
		2,73	multiplete	3H H ₅ -H ₆ -H ₇	"
		2,31	multiplete	1H H ₄	"
		1,15	señal ancha	1H NH	"

Tabla VII



No	R	Valores τ	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	$-\text{CH}_3$	7,36	singlete	3H CH_3-NH	DMSO
		6,80	singlete	1H CH_2-CH_2	
		2,75	multiplete	4H $\text{H}_2-\text{H}_6-\text{H}_5$	
				y H_7 indol	
		2,35	multiplete	1H H_4	
		1,15	señal ancha	2H NH_2	
		-1,30	señal ancha	1H NH	
2	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	8,80	triplete J=6,7	3H CH_3-CH_2	DMSO
		6,85	multiplete	6H CH_2-CH_2	
		2,85	multiplete	4H y CH_2-CH_3 $\text{H}_2-\text{H}_5-\text{H}_6$	
		2,45	multiplete	y H_7 indol	
		1,32	señal ancha	1H H_4	
				2H NH_2	
				"	

Tabla VII (continuación)


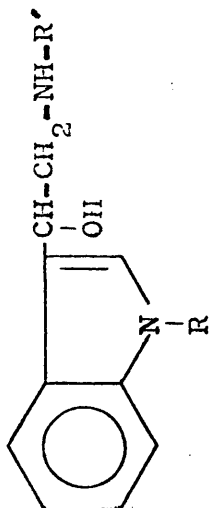
Nº	R	Valores τ	Multipl. Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
2		-1,00	señal ancha	1H $\underline{\text{NH}}$ indol	
3	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	8,75	doble J=6	6H CH_3-CH CH_3	DMSO
		6,70	multiplete	5H CH_2-CH_2 y $\text{CH}-\text{NH}_2$	
		2,82	multiplete	4H $\text{H}_2-\text{H}_5-\text{H}_6$ y H_7 indol	
		2,40	multiplete	1H H_4 "	
		1,25	señal ancha	2H NH_2	
		-1,00	señal ancha	1H $\underline{\text{NH}}$ "	
4		6,80	singlete	4H CH_2-CH_2	DMSO
		5,72	señal ancha	2H $\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$	
		2,60	multiplete	10H $\text{H}_2-\text{H}_4-\text{H}_5$ y H_6-H_7 indol	
		0,60	señal ancha	y C_6H_5	
		-1,00	señal ancha	2H NH_2 1H $\underline{\text{NH}}$ "	

Tabla VII (continuación)

Nº	R	Valores τ	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
5*	-CH ₂ -	6,50	singlete	4H CH ₂ -CH ₂	DMSO
		5,75	singlete	2H CH ₂ -C ₆ H ₅	
		2,65	multiplete	10H H ₂ -H ₄ -H ₅ y H ₆ -H ₇ indol y C ₆ H ₅	
		1,37	singlete	2H pícrico	

* Picrato

Tabla VIII



Nº	R	R'	Valores τ	Multipl. Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	-CH ₃	-CH ₃	7,60 7,28 7,05 6,30 4,90 2,98 2,75 2,27	singlete singlete doblete J=6 singlete triplete J=6 singlete multiplete multiplete	3H CH ₃ -NH 2H OH y NH 2H CH ₂ -CH 3H CH ₃ -N 1H CH ₂ -OH 1H H ₂ indol 3H H ₅ -H ₆ -H ₇ " 1H H ₄ "	CDCl ₃
2	-CH ₃	-CH ₂ -CH ₃	8,93 7,30 7,27 7,00 6,30 4,90 2,95	triplete J=6,6 cuartete J=6,6 singlete doblete J=6 singlete triplete J=6 singlete	3H CH ₃ -CH ₂ 2H CH ₂ -CH ₃ 2H OH y NH 2H CH ₂ -CH 3H CH ₃ -N 1H CH ₂ -OH 1H H ₂ indol	CDCl ₃

Tabla VIII (continuación)


Nº	R	R'	Valores Z	Multipl. Valores J (cps)	Asignaciones	Disolvente
2			2,73 2,25	multiplete multiplete	$H_5-H_6-H_7$ indol H_4 "	$CDCl_3$
3	$-CH_3$	$-CH-CH_3$ $ $ CH_3	8,95 7,40 7,10 7,00 6,30 4,95 2,98 2,75 2,30	doblete J=6 singlete cuartete J=6 doblete J=6 singlete triplete J=6 singlete multiplete multiplete	CH_3-CH $ $ CH_3 OH y NH $CH-NH$ CH_2-CH CH_3-N $CH-OH$ H_2 indol $H_5-H_6-H_7$ " H_4 "	$CDCl_3$
4	$-CH_3$	$-CH_2-$ 	7,37 6,95 6,29 6,12 4,88 2,95	singlete doblete J=6 singlete singlete triplete J=6 singlete	OH y NH CH_2-CH CH_3-N $CH_2-C_6H_5$ $CH-OH$ H_2 indol	$CDCl_3$

Tabla VIII (continuación)


Nº	R	R'	Valores τ	Multipl. Valores J (cps)	Asignaciones	Disolvente
4			2,70	multiplete	8H $H_5-H_6-H_7$ indol y C_6H_5	
			2,30	multiplete	1H H_4 "	
5	$-CH_2-$	$-CH_3$	7,60	singlete	3H CH_3-N	CDCl ₃
			7,05	doblete J=6	2H CH_2-CH	
			6,95	singlete	2H OH y NH	
			4,90	triplete J=6	1H $CH-OH$	
			4,80	singlete	2H $CH_2-C_6H_5$	
			2,92	singlete	1H H_2 indol	
			2,65	multiplete	8H $H_5-H_6-H_7$, C_6H	
			2,30	multiplete	1H H_4 "	
6	$-CH_2-$  $-CH_2-$ CH_3		8,90	triplete J=6	3H CH_3-CH_2	CDCl ₃
			7,25	cuartete J=6	2H CH_2-CH_3	
			7,08	singlete	2H OH y NH	
			6,95	doblete J=6	2H CH_2-CH	
			4,87	triplete J=6	1H $CH-OH$	
			4,73	singlete	2H $CH_2-C_6H_5$	
			2,90	singlete	1H H_2 indol	
			2,77	multiplete	8H $H_5-H_6-H_7$, C_6H	

Tabla VIII (continuación)

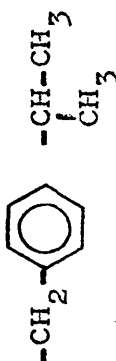
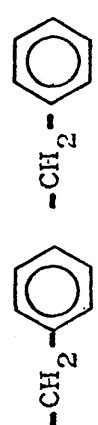
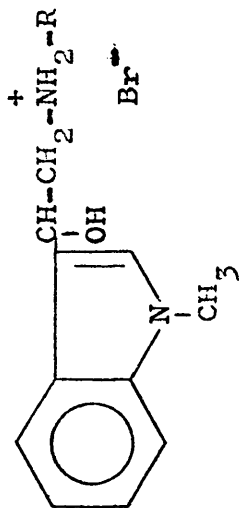
Nº	R	R'	Valores	Multipl. y Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
6			2,35	multiplete	1H H_4 indol	
7			8,90	doblete	6H $\text{CH}_3\text{-CH-CH}_3$	CDCl ₃
			7,05	multiplete	5H $\text{CH}_2\text{-CH, OH, NH}$ y CH-NH	
			4,90	triplete	1H CH-OH	
			4,75	singlete	2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$	
			2,90	singlete	1H H_2 indol	
			2,75	multiplete	8H $H_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ y C_6H_5	"
			2,30	multiplete	1H H_4	"
8			7,05	singlete	2H OH y NH	CDCl ₃
			6,95	doblete J=6	2H $\text{CH}_2\text{-CH}$	
			6,12	singlete	2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$	
			4,90	triplete J=6	1H CH-OH	
			4,75	singlete	2H $\text{CH}_2\text{-N}$	
			2,90	singlete	1H H_2 indol	
			2,77	multiplete	13H $H_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ "y(C ₆ H ₅) ₂	
			2,30	multiplete	1H H_4 indol	

Tabla IX

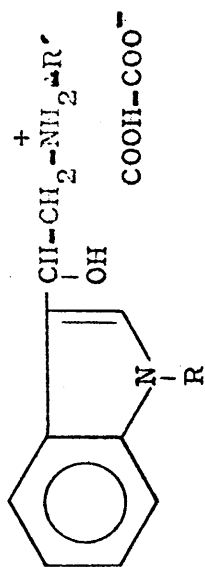


Nº	R	Valores τ	Multiplidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	-CH_3	7,40 6,70 6,25 4,63 2,65	singlete multiplete singlete multiplete multiplete	3H $\text{CH}_3\text{-NH}_2$ 2H $\text{CH}_2\text{-CH}$ 3H $\text{CH}_3\text{-N}$ 4H OH, NH_2 y CH-OH 5H $\text{H}_2\text{-H}_4\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$	DMSO
2	$\text{-CH}_2\text{-CH}_3$	8,75 6,75 6,20 4,60 2,70 2,19	multiplete multiplete singlete multiplete multiplete multiplete	3H $\text{CH}_3\text{-CH}_2$ 7H $\text{CH}_2\text{-CH}_3, \text{CH}_2\text{-CH}$ OH y NH_2 3H $\text{CH}_3\text{-N}$ 1H CH-OH 4H $\text{H}_2\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ 1H H_4	DMSO
3	-CH-CH_3 CH_3	8,70	doblete J=6	6H $\text{CH}_3\text{-CH}$ CH_3	DMSO

Tabla IX (continuación)

Nº	R	Valores τ	Multiplícidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
3		6,70	multiplete	6H $\text{CH-NH}_2, \text{OH}$ $\text{CH}_2\text{-CH y NH}_2$	
		6,21	singlete	3H $\text{CH}_3\text{-N}$	
		4,62	multiplete	1H CH-CH_2	
		2,75	multiplete	4H $\text{H}_2\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$	
		2,22	multiplete	1H H_4	

Tabla X



Nº	R	R'	Valores τ	Multipl. Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3$	7,50 6,90 6,30 4,85 3,90 2,75 2,32	singlete doblete J=6 singlete triplete J=6 señal ancha multiplete multiplete	3H CH_3-NH_2 2H CH_2-CH 3H CH_3-N 1H $\text{CH}-\text{CH}_2$ 4H OH, NH_2 y COOH 4H $\text{H}_2-\text{H}_5-\text{H}_6-\text{H}_7$ 1H H_4	DMSO
2	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	8,80 6,95 6,30 4,77 2,75 2,30	triplete multiplete singlete triplete multiplete multiplete	3H CH_3-CH_2 4H CH_2-CH y CH_2-CH_3 3H CH_3-N 1H $\text{CH}-\text{OH}$ 4H $\text{H}_2-\text{H}_5-\text{H}_6-\text{H}_7$ 1H H_4	DMSO
3	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$	8,80	doblete	6H CH_2-CH CH_3	DMSO

Tabla X (continuación)



Nº	R	R'	Valores τ	Multipl. Valores J (cps)	Asignaciones	Disolvente
3			6,85 6,23 4,80 2,75 2,40 1,70	multiplete singlete multiplete multiplete multiplete señal ancha	3H $\text{CH}_2\text{-CH}$ y CH-NH_2 3H $\text{CH}_3\text{-N}$ 1H CH-OH 4H $\text{H}_2\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ 1H H_4 4H OH, NH_2 y COOH	
4	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2-$ 	6,95 6,27 5,88 4,80 3,20 2,65	doblete J=6 singlete singlete triplete J=6 señal ancha multiplete	2H $\text{CH}_2\text{-CH}$ 3H $\text{CH}_3\text{-N}$ 2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ 1H CH-CH_2 4H OH, NH_2 y COOH 10H $\text{H}_2\text{-H}_4\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ y C_6H_5	DMSO
5	$-\text{CH}_2-$ 	$-\text{CH}_3$	7,38 6,80 4,75 4,62 2,75	singlete multiplete triplete singlete multiplete	3H $\text{CH}_3\text{-N}$ 2H $\text{CH}_2\text{-CH}$ 1H CH-OH 2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ 10H $\text{H}_2\text{-H}_4\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ y C_6H_5	

Tabla X (continuación)

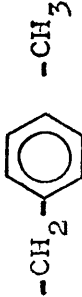
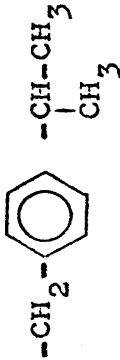
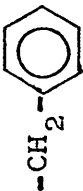

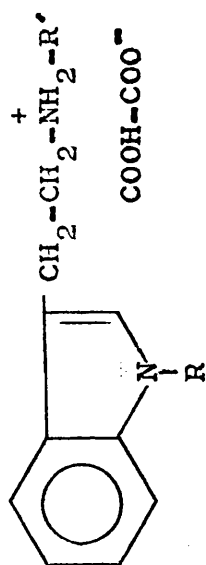
Nº	R	R'	Valores τ	Multipl. Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
5			2,32	señal ancha	4H OH, NH_2 y COOH	
5'			7,32	singlete	3H $\text{CH}_3\text{-N}$	DMSO
			6,70	doblete J=6	2H $\text{CH}_2\text{-CH}$	
			4,78	triplete J=6	2H CH-OH	
			4,59	singlete	2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$	
			3,90	singlete	2H CH=CH	
			2,70	multiplete	9H $\text{H}_2\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ y C_6H_5	
			2,28	multiplete	1H H_4	
6*			8,73	doblete J=6	6H $\text{CH}_3\text{-CH}$ CH_3	DMSO
			6,73	multiplete	2H $\text{CH}_2\text{-CH}$	
			4,74	multiplete	1H CH-OH	
			4,55	singlete	2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$	
			3,90	singlete	2H CH=CH	
			2,60	multiplete	14H $\text{H}_2\text{-H}_4\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ $\text{C}_6\text{H}_5, \text{OH}, \text{NH}_2, \text{COOH}$	

Tabla X (continuación)

No	R	R'	Valores Z	Multiplidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
7			6,87 5,80 4,72 4,61 2,60	multiplete singlete multiplete singlete multiplete	2H $\text{CH}_2\text{-CH}$ 2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ 1H CH-OH 2H $\text{CH}_2\text{-N}$ 19H $\text{H}_2\text{-H}_4\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2$, OH, NH ₂ y COOH	DMSO

* Maleatos

Tabla XI



No	R	R'	Valores τ	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	-CH ₃	-CH ₃	7,40	singlete	3H CH ₃ -NH ₂	DMSO
			6,90	singlete	4H CH ₂ -CH ₂	
			6,27	singlete	3H CH ₃ -N	
			2,82	multiplete	4H H ₂ -H ₅ -H ₆ -H ₇	
			2,45	multiplete	1H H ₄	
			1,15	señal ancha	3H NH ₂ y COOH	
2	-CH ₃	-CH ₂ -CH ₃	8,80	triplete	3H CH ₃ -CH ₂	DMSO
			6,94	cuartete	2H CH ₂ -CH ₃	
			6,90	singlete	4H CH ₂ -CH ₂	
			6,25	singlete	3H CH ₃ -N	
			2,78	multiplete	4H H ₂ -H ₅ -H ₆ -H ₇	
			2,45	multiplete	1H H ₄	
			2,12	señal ancha	3H NH ₂ y COOH	

Tabla XI (continuación)



Nº	R	R'	Valores τ	Multipl. Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
3	-CH ₃	$\begin{array}{c} \text{-CH-CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	8,66	doble J=6	6H $\text{CH}_3\text{-CH}$ $\quad \quad $ $\quad \quad \text{CH}_3$	DMSO
			6,75	multiplete	5H $\text{CH}_2\text{-CH}_2, \text{CH-NH}_2$	
			6,26	singlete	3H $\text{CH}_3\text{-N}$	
			2,80	multiplete	4H $\text{H}_2\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$	
			2,40	multiplete	1H H_4	
			1,70	señal ancha	3H NH_2 y COOH	
4	-CH ₃	$\begin{array}{c} \text{---} \\ \\ \text{---} \end{array}$ 	6,90	singlete	4H $\text{CH}_2\text{-CH}_2$	DMSO
			6,30	singlete	3H $\text{CH}_3\text{-N}$	
			5,80	singlete	2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$	
			3,10	señal ancha	3H NH_2 y COOH	
			2,60	multiplete	10H $\text{H}_2\text{-H}_4\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ y C_6H_5	
5	 -CH ₂	-CH ₃	7,40	singlete	3H $\text{CH}_3\text{-N}$	DMSO
			6,90	singlete	4H $\text{CH}_2\text{-CH}_2$	
			4,60	singlete	2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$	
			3,10	señal ancha	3H NH_2 y COOH	
			2,75	multiplete	10H $\text{H}_2\text{-H}_4\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ y C_6H_5	

Tabla XI (continuación)




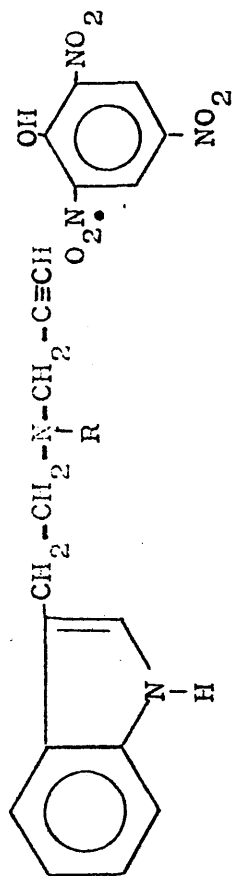
Nº	R	R'	Valores τ	Multipl. Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
6	$-\text{CH}_2-$	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	8,80 6,80 6,90 4,60 2,70	triplete J=6 cuartete J=6 singlete singlete multiplete	3H CH_3-CH_2 2H CH_2-CH_3 4H CH_2-CH_2 2H $\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ 10H $\text{H}_2-\text{H}_4-\text{H}_5-\text{H}_6-\text{H}_7$ y C_6H_5	DMSO
7	$-\text{CH}_2-$ 	$-\text{CH}-\text{CH}_3$ $\quad $ CH_3	1,85 8,80 6,80 6,90 4,60 2,70 2,30	señal ancha doblete multiplete singlete singlete multiplete señal ancha	3H NH_2 y COOH	DMSO
8	$-\text{CH}_2-$ 	$-\text{CH}_2-$ 	6,80 5,75 4,60 2,60 3,00	singlete singlete singlete multiplete señal ancha	6H CH_3-CH_2 1H $\text{CH}-\text{NH}_2$ 4H CH_2-CH_2 2H $\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ 10H $\text{H}_2-\text{H}_4-\text{H}_5-\text{H}_6-\text{H}_7$ 3H NH_2 y COOH	DMSO

Tabla XII

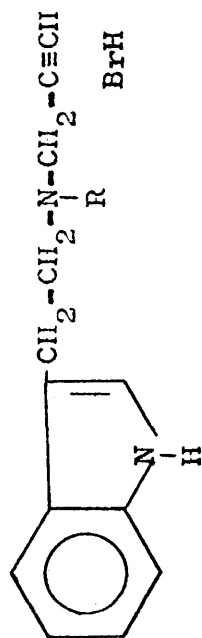


No	R	Valores τ	Multiplicidad Valores J (cps)	Asignaciones	Disolvente
1	-CH ₃	7,05	singlete	3H CH ₃ -N	DMSO
		6,70	multiplete	4H CH ₂ -CH ₂	
		6,12	triplete J=2,8	1H CH≡C	
		5,75	doblete J=2,8	2H CH ₂ -C	
		2,80	multiplete	4H H ₂ -H ₅ -H ₆ -H ₇	
		2,40	multiplete	1H H ₄	
		1,48	singlete	2H pícrico	
2	-CH ₂ -CH ₃	8,70	triplete J=7	3H CH ₃ -CH ₂	DMSO
		6,65	multiplete	6H CH ₂ -CH ₂ , CH ₂ -CH ₃	
		6,10	triplete J=2,8	1H CH≡C	
		5,70	doblete	2H CH ₂ -C	
		2,80	multiplete	4H H ₂ -H ₅ -H ₆ -H ₇	
		2,40	multiplete	1H H ₄	
		1,40	singlete	2H pícrico	

Tabla XII (continuación)


Nº	R	Valores τ	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
3	$\begin{array}{c} \text{--CH--CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	8,65	doblete J=6	6H $\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{--CH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	DMSO
		6,75	multiplete	5H $\text{CH}_2\text{--N, CH}_2\text{--CH}_2$	
		6,30	triplete J=2,8	1H CH=C	
		5,72	doblete J=2,8	2H $\text{CH}_2\text{--C}$	
		2,82	multiplete	4H $\text{H}_2\text{--H}_5\text{--H}_6\text{--H}_7$	
		2,45	multiplete	1H H_4	

Tabla XIII



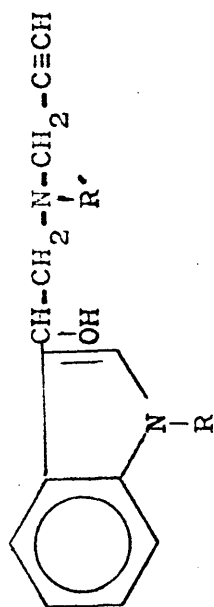
Nº	R	Valores τ	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	-CH ₃	7,05 6,68 6,10 5,70 2,82 2,40 -1,05	singlete multiplete triplete J=2,8 doblete J=2,8 multiplete multiplete señal ancha	3H CH ₃ -N 4H CH ₂ -CH ₂ 1H CH≡C 2H CH ₂ -C 4H H ₂ -H ₅ -H ₆ -H ₇ 1H H ₄ 1H NH indol	DMSO
2	-CH ₂ -CH ₃	8,70 6,67 6,10 5,68 2,81 2,38	triplete J=6 multiplete triplete J=2,8 doblete J=2,8 multiplete multiplete	3H CH ₃ -CH ₂ 6H CH ₂ -CH ₂ , CH ₂ -CH ₃ 1H CH≡C 2H CH ₂ -C 4H H ₂ -H ₅ -H ₆ -H ₇ 1H H ₄	DMSO
3*	-CH-CH ₃ CH ₃	8,70	doblete J=6,6	6H CH ₃ -CH CH ₃	DMSO

Tabla XIII (continuación)

Nº	R	Valores τ	Multipl. Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
3*		6,75 6,18 5,77 3,86 2,80 2,42	singlete triplete J=2,8 doblete J=2,8 singlete multiplete multiplete	4H $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ 1H $\text{CH}\equiv\text{C}$ 2H $\text{CH}_2\text{-C}$ 2H $\text{CH}=\text{CH}$ 4H $\text{H}_2\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ 1H H_4	
4		6,68 6,00 5,70 5,45 2,60	multiplete triplete singlete doblete multiplete	4H $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ 1H $\text{CH}\equiv\text{C}$ 2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ 2H $\text{CH}_2\text{-C}$ 10H $\text{H}_2\text{-H}_4\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ y C_6H_5	DMSO

* Maleato

Tabla XIV



Nº	R	R'	Valores τ	Multipl. Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	-CH ₃	-CH ₃	7,78 7,52 7,26 6,65 6,50 6,28 4,95 2,91 2,75 2,30	triplete J=2,8 singlete doblete J=6,2 señal ancha doblete J=2,8 singlete triplete J=6,2 singlete multiplete multiplete	1H CH≡C 3H CH ₃ -NH 2H CH ₂ -CHOH 1H OH 2H CH ₂ -C 3H CH ₃ -N 1H CH-OH 1H H ₂ 3H H ₅ -H ₆ -H ₇ 1H H ₄	CDCl ₃
2	-CH ₃	-CH ₂ -CH ₃	8,91 7,84 7,25 6,63	triplete J=6,6 triplete J=2,8 multiplete señal ancha	3H CH ₃ -CH ₂ 1H CH≡C 4H CH ₂ -CH ₃ CH ₂ -CHOH 1H OH	CDCl ₃

Tabla XIV (continuación)

Nº	R	R'	Valores τ	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
2			6,43	doblete J=2,8	2H $\text{CH}_2\text{-C}$	
			6,30	singlete	3H $\text{CH}_3\text{-N}$	
			4,90		1H CH-OH	
			2,91	singlete	1H H_2	
			2,75	multiplete	3H $\text{H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$	
			2,30	multiplete	1H H_4	
3	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}-\text{CH}_3$ CH_3	8,95	doblete J=3,2	3H $\text{CH}_3\text{-CH}$	CDCl_3
			8,85	doblete J=3,2	3H $\text{CH}_3\text{-CH}$	
			7,76	triplete J=2,8	1H $\text{CH}\equiv\text{C}$	
			7,05	multiplete	3H $\text{CH}_2\text{-CH, CH-N}$	
			6,45	doble J=2,8	2H $\text{CH}_2\text{-C}$	
			6,27	singlete	3H $\text{CH}_3\text{-N}$	
			4,95	multiplete	1H CH-OH	
			2,90	singlete	1H H_2	
			2,75	multiplete	3H $\text{H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$	
			2,30	multiplete	1H H_4	

Tabla XIV (continuación)

Nº	R	R'	Valores τ	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
4	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$	7,78 7,06 6,75 6,39 6,12 6,34 4,90 2,96 2,70 2,42	triplete J=2,8 multiplete señal ancha doblete doblete singlete multiplete singlete multiplete multiplete	1H $\text{CH}\equiv\text{C}$ 2H CH_2-CHOH 1H HO 1H $\text{CH}_2\cdot\text{C}_6\text{H}_5$ 1H 3H CH_3-N 1H $\text{CH}-\text{OH}$ 1H H_2 3H $\text{H}_5-\text{H}_6-\text{H}_7$ 1H H_4	CDCl_3
5	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$	$-\text{CH}_3$	7,78 7,55 7,15 6,65 6,53 4,90 4,75 2,75 2,25	triplete J=2,8 singlete doblete señal ancha doblete multiplete singlete multiplete multiplete	1H $\text{CH}\equiv\text{C}$ 3H CH_3-N 2H CH_2-CH 1H OH 2H CH_2-C 1H $\text{CH}-\text{OH}$ 2H $\text{CH}_2\cdot\text{C}_6\text{H}_5$ 9H $\text{H}_2-\text{H}_5-\text{H}_6-\text{H}_7$ y C_6H_5 1H H_4	CDCl_3

Tabla XIV (continuación)

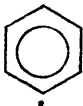
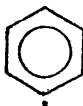
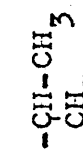
Nº	R	R'	Valores τ	Multipl. Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
6	 -CH ₂ -	-CH ₂ -CH ₃	8,85 7,80 7,28 6,40 4,93 4,74 2,77	triplete J=7,3 triplete J=2,8 multiplete doblete J=2,8 multiplete singlete multiplete	3H CH ₃ -CH ₂ 1H CH≡C 4H CH ₂ -CH ₃ , CH ₂ -CH 2H CH ₂ -C 1H CH-OH 2H CH ₂ ·C ₆ H ₅ 9H H ₂ -H ₅ -H ₆ -H ₇ y C ₆ H ₅	CDCl ₃
7	 -CH ₂ -	 -CH-CH ₃ CH ₃	8,85 7,80 6,95 6,48 6,40 4,95 4,77 2,75	multiplete triplete J=2,8 multiplete doblete J=2,8 señal ancha multiplete singlete multiplete	6H CH ₃ -CH-CH ₃ 1H CH≡C 3H CH ₂ -CH, CH-N 2H CH ₂ -C 1H OH 1H CH-OH 2H CH ₂ ·C ₆ H ₅ 9H H ₂ -H ₅ -H ₆ -H ₇ y C ₆ H ₅	CDCl ₃

Tabla XIV (continuación)

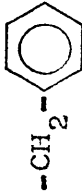
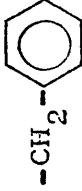
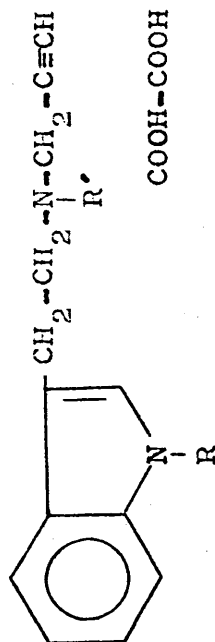
Nº	R	R'	Valores τ	Multiplícidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
7			2,25	multiplete	1H H ₄	CDCl ₃
8			7,75	triplete J=2,8	1H $\overline{\text{CH}}\equiv\text{C}$	
			7,00	multiplete	2H $\overline{\text{CH}}_2-\text{CHOH}$	
			6,53	doblete J=2,8	2H $\overline{\text{CH}}_2-\text{C}$	
			6,35	doblete	1H $\overline{\text{CH}}_2\cdot\text{C}_6\text{H}_5$	
			6,05	doblete	1H	
			4,85	multiplete	1H $\overline{\text{CH}}-\text{OH}$	
			4,72	singlete	2H $\overline{\text{CH}}_2-\text{N}$ indol	
			2,75	multiplete	14H $\text{H}_2-\text{H}_5-\text{H}_6-\text{H}_7$ y $(\text{C}_6\text{H}_5)_2$	
			2,35	multiplete	1H H ₄	

Tabla XV



No	R	R'	Valores τ	Multiplicidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3$	7,28	singlete	3H CH_3-N	DMSO
			6,90	singlete	4H CH_2-CH_2	
			6,40	triplete J=2,8	1H $\text{CH}\equiv\text{C}$	
			6,24	singlete	3H CH_3-N indol	
			6,05	dobleto J=2,8	2H CH_2-C	
			2,78	multiplete	4H $\text{H}_2-\text{H}_5-\text{H}_6-\text{H}_7$	
			2,38	multiplete	1H H_4	
			0,30	señal ancha	2H NH y COOH	
2	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	8,83	triplete	3H CH_3-CH_2	DMSO
			6,90	multiplete	6H $\text{CH}_2-\text{CH}_2, \text{CH}_2-\text{CH}_3$	
			6,45	triplete J=3,2	1H $\text{CH}\equiv\text{C}$	
			6,29	singlete	3H CH_3-N	
			6,04	dobleto J=3,2	2H CH_2-C	
			2,80	multiplete	4H $\text{H}_2-\text{H}_5-\text{H}_6-\text{H}_7$	
			2,40	multiplete	1H H_4	

Tabla XV (continuación)

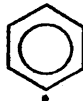
No	R	R'	Valores τ	Multipl. Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
2			0,10	señal ancha	2H NH y COOH	
3	-CH ₃	-CH-CH ₃ CH ₃	8,73	doble J=6	6H CH ₃ -CH CH ₃	DMSO
			6,38	singlete	4H CH ₂ -CH ₂	
			6,54	cuartete J=6	1H CH-N	
			6,38	triplete J=2,8	1H CH≡C	
			6,25	singlete	3H CH ₃ -N	
			5,95	doble J=2,8	2H CH ₂ -C	
			2,80	multiplete	4H H ₂ -H ₅ -H ₆ -H ₇	
			2,40	multiplete	1H H ₄	
			-0,80	señal ancha	2H NH y COOH	
4	-CH ₃	 -CH ₂	7,10	singlete	4H CH ₂ -CH ₂	DMSO
			6,70	triplete J=3,2	1H CH≡C	
			6,43	doble J=3,2	2H CH ₂ -C	
			6,30	singlete	3H CH ₃ -N	
			6,18	singlete	2H CH ₂ -C ₆ H ₅	
			2,73	multiplete	10H H ₂ -H ₄ -H ₅ -H ₆ -H ₇ y C ₆ H ₅	

Tabla XV (continuación)

169-

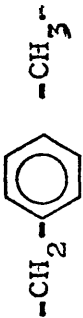

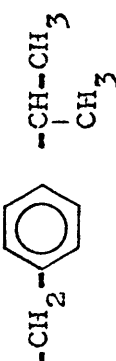

Nº	R	R'	Valores	Multiplidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
4			1,18	señal ancha	2H NH y COOH	
5			7,33 6,93 6,45 6,10 4,60 2,65	singlete singlete triplete J=3,2 doblete J=3,2 singlete multiplete	3H CH ₃ -N 4H CH ₂ -CH ₂ 1H CH≡C 2H CH ₂ -C 2H CH ₂ -C ₆ H ₅ 10H H ₂ -H ₄ -H ₅ -H ₆ -H ₇ y C ₆ H ₅	DMSO
6			1,50 8,80 6,90 6,40 6,00 4,60 2,60	señal ancha triplete J=6 multiplete triplete doblete singlete multiplete	2H NH y COOH 3H CH ₃ -CH ₂ 6H CH ₂ -CH ₂ , CH ₂ -CH ₃ 1H CH≡C 2H CH ₂ -C 2H CH ₂ -C ₆ H ₅ 10H H ₂ -H ₄ -H ₅ -H ₆ -H ₇ y C ₆ H ₅	DMSO
			-1,20	señal ancha	2H NH y COOH	

Tabla XV (continuación)

Nº	R	R'	Valores	Multiplidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
7			8,80	doblete J=6	6H $\text{CH}_3\text{-CH-CH}_3$	DMSO
			6,90	singlete	4H $\text{CH}_2\text{-CH}_2$	
			6,65	multiplete	1H CH-N	
			6,47	triplete J=2,8	1H CH=C	
			6,05	doblete J=2,8	2H $\text{CH}_2\text{-C}$	
			4,60	singlete	2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$	
			3,60	señal ancha	2H NH y COOH	
			2,60	multiplete	10H $\text{H}_2\text{-H}_4\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ y C_6H_5	
8			7,00	singlete	4H $\text{CH}_2\text{-CH}_2$	DMSO
			6,65	triplete	1H CH=C	
			6,40	doblete	2H $\text{CH}_2\text{-C}$	
			6,10	singlete	2H $\text{CH}_2\text{-N}$	
			4,60	singlete	2H $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$	
			2,65	multiplete	15H $\text{H}_2\text{-H}_4\text{-H}_5\text{-H}_6\text{-H}_7$ y $(\text{C}_6\text{H}_5)_2$	
			-1,40	señal ancha	2H NH y COOH	

R-NH₂• XH





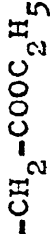
Nº	R	X	Valores τ	Multiplícidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1		Br ⁻	6,52 2,53 1,60	singlete multiplete señal ancha	2H CH ₂ -C ₆ H ₅ 5H C ₆ H ₅ 3H NH ₃	DMSO
2		Cl ⁻	6,00 2,50 1,30	singlete multiplete señal ancha	2H CH ₂ -C ₆ H ₅ 5H C ₆ H ₅ 3H NH ₃	DMSO
3		COOH-COO ⁻	6,00 2,55 2,40	singlete multiplete señal ancha	2H CH ₂ -C ₆ H ₅ 5H C ₆ H ₅ 4H NH ₃ y COOH ⁻	DMSO
4		COOH-COO ⁻	7,65 2,35	singlete señal ancha	3H CH ₃ -N 4H NH ₃ y COOH ⁻	DMSO
5		Cl ⁻	8,70 6,20 5,75 1,21	triplete J=6,2 singlete cuartete J=6,2 señal ancha	3H CH ₃ -CH ₂ 2H CH ₂ -CO 2H CH ₂ -CH ₃ 3H NH ₃	DMSO

Tabla XVII

R-NH-CH₂-C≡CH.XH


Nº	R	X	Valores τ	Multiplícidad Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
1	-CH ₂ -CH ₃	Br ⁻	8,86 7,00 6,32 6,09 0,88	triplete J=8 cuartete J=8 triplete J=2,8 doblete J=2,8 señal ancha	3H CH ₃ -CH ₂ 2H CH ₂ -CH ₃ 1H CH≡C 2H CH ₂ -C 2H NH ₂	DMSO
2	-CH-CH ₃ CH ₃	Br ⁻	8,82 6,73 6,41 6,15 0,80	doblete J=8 cuartete J=8 triplete J=2,8 doblete J=2,8 señal ancha	6H CH ₃ -CH-CH ₃ 1H CH-NH 1H CH≡C 2H CH ₂ -C 2H NH ₂	DMSO
3	-CH ₂ - 	Br ⁻	6,25 6,06 5,78 2,50 0,40	triplete J=2,8 doblete J=2,8 singlete multiplete señal ancha	1H CH≡C 2H CH ₂ -C 2H CH ₂ -C ₆ H ₅ 5H C ₆ H ₅ 2H NH ₂	DMSO

Tabla XVII (continuación)

Nº	R	X	Valores τ	Multipl. Valores J(cps)	Asignaciones	Disolvente
4	$\begin{array}{c} \text{--CH--CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Cl^-	8,75 6,60 6,32 6,10 0,35	doblete J=6 multiplete triplete J=2,8 doblete señal ancha	6H $\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{--CH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ 1H $\text{CH}_2\text{--NH}$ 1H $\text{CH}\equiv\text{C}$ 2H $\text{CH}_2\text{--C}$ 2H NH_2	DMSO
5	$\text{--CH}_2\text{--CH}_3$	COOH--COO^-	8,80 7,00 6,35 6,14 0,62	triplete J=8 cuartete J=8 triplete J=2,8 doblete J=2,8 señal ancha	3H $\text{CH}_3\text{--CH}_2$ 2H $\text{CH}_2\text{--CH}_3$ 1H $\text{CH}\equiv\text{C}$ 2H $\text{CH}_2\text{--C}$ 3H NH_2 y COOH	DMSO

RESUMEN Y CONCLUSIONES

El trabajo experimental que se resume en esta memoria como Tesis Doctoral forma parte de la labor investigadora que viene realizando desde hace algunos años el grupo integrado en la Sección de Enzimoquímica, Departamento de Productos Naturales, del Instituto de Química Orgánica General (C.S.I.C., Madrid) sobre síntesis y estudio de inhibidores de la inactivación por desaminación oxidativa catalizada por monoaminooxidasas (MAO) de aminas biógenas, en busca de nuevos productos de posible interés biológico y clínico.

El objetivo de esta memoria es exponer nuestros resultados sobre la síntesis y estudio como inhibidores de monoaminooxidasa mitocondrial de una serie de propinilaminas indólicas, referibles en sus estructuras a 3-[2-(N-alquil-N-(2-propinil))aminoetil]indoles y a 3-[1-hidroxí-2-(N-alquil-N-(2-propinil))aminoetil]indoles. Todos los productos han sido satisfactoriamente caracterizados por sus análisis elementales y espectros IR y RMN.

Al iniciar nuestro trabajo (1970), ninguno de estos tipos de productos había sido descrito en la bibliografía a nuestro alcance. No obstante, en diciembre de 1972, apareció una patente que prepara uno de los productos, aunque por un método diferente al nuestro, y lo describe como inhibidor de MAO.

A continuación resumimos las principales conclusiones de nuestro trabajo:

- 1^a.- A partir de indol y por reacción con ioduro de metilo o con cloruro de bencilo en presencia de sodamida (sódio + amoniaco) en amoniaco líquido, por adaptación de métodos conocidos, se han preparado con buenos rendimientos: N-metilindol (95%) y N-bencilindol (98%).
- 2^a.- Por reacción de N-metilindol y N-bencilindol con diazoacetato de etilo y por adaptación de un método descrito (1968), para el indol, se han preparado y caracterizado los correspondientes ésteres etílicos de los ácidos N-metilindol-3-acético y N-bencilindol-3-acético, y a partir de ellos, por hidrólisis alcalina, los ácidos correspondientes.
- 3^a.- Por reacción de indol, N-metilindol y N-bencilindol con cloruro de oxalilo, según el método de Speeter y Anthony (1954) para el primero, se han obtenido con rendimientos de 82%, 92% y 76%, respectivamente, los cloruros de los ácidos indolil-3-glioxilico, N-metilindolil-3-glioxilico y N-bencilindolil-3-glioxilico.
- 4^a.- Por reacción de los tres cloruros de ácido citados en la conclusión 3^a con diversas alquilaminas en medio acuoso se han obtenido y caracterizado las correspondientes 12 indolil-3-glioxilamidas N' sustituidas, correspondientes a los radicales metilo, etilo, isopropilo y bencilo. Los rendimientos varían de 40 a 100%, según el caso.
- 5^a.- Por reacción de los ácidos N-metilindol-3-acético y N-bencilindol-3-acético, obtenidos según la conclusión 2^a con pentacloruro de fósforo en éter se han obtenido los correspondientes cloruros de ácido que, sin aislarlos, se hicieron

reaccionar con diversas aminas, para dar una serie de N-alquilindolil-3-acetamidas N'sustituidas, en las que N'-alquilo = metilo, etilo, isopropilo y bencilo y N-alquilo = metilo, bencilo. Los rendimientos son en todos los casos muy buenos (93-95%).

6^a.- La reducción de las indolil-3-glioxilamidas, mencionadas en la conclusión 4^a con hidruro de litio y aluminio con éter como disolvente, durante varios días de reflujo, y descomposición de la mezcla de reacción con tetrahidrofuran acuoso, se han obtenido y caracterizado dos series de productos:

- a) La reducción de indolil-3-glioxilamidas N' sustituidas condujo a la obtención de los 3-(2-alquilaminoetil)indoles, donde el radical alquilo ha sido metilo, etilo, isopropilo y bencilo. Los rendimientos han sido de 50-68%. Y los productos se han purificado generalmente por destilación a vacío.
- b) La reducción de las correspondientes N-alquilindolil-3-glioxilamidas N' sustituidas sólo transcurre de modo parcial para dar los correspondientes 3-(1-hidroxi-2-alquilaminoetil)N-alquilindoles, donde los radicales N-alquilo han sido metilo o bencilo, y los radicales N'-alquilo han sido metilo, etilo, isopropilo y bencilo. Los rendimientos fueron de 65-70% para la serie N-metil y de 70-80% para la serie N-bencilindol.

Estos productos se intentaron purificar por recristalización de disolventes apropiados. En general no llegaron a dar análisis correctos, aunque sí espectros IR y RMN, satisfactorios.

7^a.— Con el fin de obtener sales solubles en agua, para obtener derivados adecuados para los ensayos enzimáticos, se intentó la preparación de diversas sales a partir de las aminas descritas en los apartados 6^aa) y 6^ab). Los 3-(2-alquilaminoetil)indoles del apartado 6^aa) disueltos en éter y tratados con solución seca de ácido bromhídrico en éter dieron cuantitativamente los respectivos hidrobromuros. Los 3-(1-hidroxi-2-alquilaminoetil)N-metilindoles del apartado 6^ab) en solución etérea dieron los correspondientes oxalatos con buenos rendimientos (70-100%) y los correspondientes hidrobromuros, poco estables y con mal rendimiento; cuando el radical alquilo era bencilo se obtuvo en la descomposición hidrobromuro de bencilamina.

Finalmente, las sales de los 3-(1-hidroxi-2-alquilaminoetil)N-bencilindoles eran todavía mucho menos estables. En la preparación de hidroccloruros e hidrobromuros sólo dieron gomas intratables, ocasionalmente se obtuvieron oxalatos. En general no se han podido obtener análisis correctos, pero sí espectros IR y RMN satisfactorios. Estas sales descomponen dando la sal de la correspondiente alquilamina.

8^a.— A la vista de los resultados de la conclusión 6^ab) y con el fin de conseguir la reducción de N-alquilindolil-3-glioxilamidas N' sustituidas a los respectivos 3-(N-alquilaminoetil)N'-alquilindoles, se forzaron las condiciones de reacción empleadas según la conclusión 6^a utilizando tetrahidrofurano como disolvente. Bajo estas condiciones, la reacción con N'-bencil-(N-bencilaminoindol)-3-glioxilamida condujo, por ruptura de la molécula, a bencilamina, caracterizada como oxalato.

9ª.- La reducción con hidruro de litio y aluminio en tetrahidrofurano, según la técnica usual, de la serie N-alquilindolil-3-acetamidas N' sustituidas, obtenidas según la conclusión 5ª condujo satisfactoriamente a los correspondientes 3-(2-alquilaminoetil)N'-alquilindoles, en los que el sustituyente N'-alquilo ha sido metilo o bencilo y el sustituyente del grupo alquilamino metilo, etilo, isopropilo y bencilo. Estos compuestos se obtienen como aceites no destilables y se purificaron como oxalatos. Los rendimientos totales de 35 a 65%. Un intento de obtener el hidrocloruro de 3-(2-bencilaminoetil)N-metilindol condujo a hidrocloruro de bencilamina.

10ª.- A partir de las aminas secundarias (2-alquilaminoetilindoles) descritas en las conclusiones 6ª y 9ª y por reacción con bromuro de propargilo, en solución bencénica, y en presencia de terc-butilamina como aceptor de protones, se han obtenido las correspondientes propinilaminas terciarias, en número de 20 y referibles a las 5 series siguientes:

- a) 3-[2-(N-alquil-N-(2-propinil))aminoetil]indoles.
- b) 3-[2-(N-alquil-N-(2-propinil))aminoetil]N-metilindoles
- c) 3-[2-(N-alquil-N-(2-propinil))aminoetil]N-bencilindoles
- d) 3-[1-hidrox-2-(N-alquil-N-(2-propinil))aminoetil]N-metilindoles
- e) 3-[1-hidrox-2-(N-alquil-N-(2-propinil))aminoetil]N-bencilindoles

En cada caso el radical N-alquiló corresponde a metilo, etilo, isopropilo y bencilo. Estos compuestos purificados por cromatografía en capa preparativa, se obtienen como aceites.

11^a. - Con el fin de tener derivados adecuados para su caracterización y productos solubles en agua para ensayos enzimáticos, se intentó la preparación de diversas sales para todas las aminas terciarias mencionadas en la conclusión 10^a.

Los compuestos mencionados en la conclusión 10^aa) se han obtenido en forma de hidrobromuros higroscópicos y difíciles de purificar, como picratos y ocasionalmente maleatos.

Los compuestos mencionados en la conclusión 10^ab) y 10^ac) se han obtenido con relativa facilidad como oxalatos.

No se han conseguido sales estables de los compuestos mencionados en la conclusión 10^ad) y 10^ae), a pesar de haber intentado la obtención de hidrocloruros, hidrobromuros, oxalatos, maleatos, fumaratos o percloratos. Las supuestas sales formadas descomponen para dar las sales correspondientes a las alquilpropinilaminas.

12^a. - Todas las aminas secundarias y terciarias obtenidas, mencionadas en las conclusiones 6^a, 8^a y 10^a, en número total de 40, han sido sometidas, ya como aminas libres o como sales, a ensayos in vitro como inhibidores de monoaminooxidasa mitocondrial, preparada de hígado de vacuno. Los ensayos se realizaron con tiramina (10^{-2} M) y con serotonina (10^{-2} , 10^{-3} M) como sustratos, a pH=7, empleando el método manométrico de Warburg para la determinación del oxígeno consumido por la mezcla de reacción y con blancos adecuados.

13^a. - Empleando el método mencionado en el apartado anterior, cada producto se ensayó sistemáticamente a concentración

5.10^{-4} M con 20 minutos de preincubación con la enzima en ausencia del sustrato. Cuando el % de inhibición a esta concentración era superior a 60%, el compuesto se ensayó a concentraciones variables, para deducir gráficamente el I_{50} (concentración de inhibidor que inhibe 50% bajo las condiciones de ensayo).

- 14ª.- Todas las aminas secundarias preparadas según los apartados 6ª y 8ª y ensayadas según el apartado 12ª con tiramina como sustrato se mostraron inhibidores de monoaminoxidasa relativamente débiles (0-37% de inhibición a 5.10^{-4} M). La más activa fue 3-(2-bencilaminoetil)N-metilindol, con $I_{50} = 1,4.10^{-4}$ M y una actividad relativa a la pargilina (tomada como referencia) del 0,2%. No se han observado variaciones drásticas en la actividad por los cambios estructurales.
- 15ª.- La inclusión de un grupo propinilo sobre el N, para dar las aminas terciarias mencionadas en el apartado 10ª, conduce en general a productos significativamente más activos y a una mayor variación de la actividad con la estructura. Los compuestos más activos, con tiramina como sustrato, fueron el 3-[2-(N-metil-N-(2-propinil))aminoetil]indol y el 3-[2-(N-metil-N-(2-propinil))aminoetil]N-metilindol que mostraron valores de I_{50} de 10^{-6} M y $3,2.10^{-7}$ M, respectivamente, y actividades relativas a pargilina de 32 y 100%, respectivamente.
- 16ª.- Las actividades inhibidoras de monoaminoxidasa frente a serotonina como sustrato, para 6 de los productos, eran mucho más bajas que con serotonina como sustrato, y mayores a concentración 10^{-2} M (6-81%) que a 10^{-3} M (4-57%).

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Biochemistry and Function of Biogenic amines in the Central nervous System. N. Seiler, L. Denish y H. Schneider, Agnew. Chem. (int. Edit.) 10, 51-67, (1971).
- 2.- M. Holzbauer y M. Vogt. J. Neurochem. 1, 8, (1956)
- 3.- A. Pletscher, P.A. Shore y B.B. Brodie. J. Pharmacol. Exptl. Therap. 116, 84, (1956).
- 4.- A. Carlsson, M. Linquist, T. Magnusson y B. Waldeck. Science, 127, 471, (1958).
- 5.- J.H. Pirch, R.H. Reech y K.E. Moore. Intern. J. Neuropharmacol. 6, 375, (1967).
- 6.- R. Kapeller-Adler. "Amine oxidases and methods for their study". Wiley-Interscience; 26-29, (1970).
- 7.- R. Kapeller-Adler. "Amine oxidases and methods for their study". Wiley-Interscience; 31-41, (1970).
- 8.- M. Dixon y E.C. Webb. "Enzymes". Longsmans. Pharmacol. Agentes, Ed. M. Gordon. Ac. Press. Inc. New York, vol. I 446-543, (1964).
- 9.- J.A. Fuentes y V.G. Longo. Neuropharmacology, 10, 15-23 Pergamon Press. (G. Britain) (1971).
- 10.- J.H. Biel, A. Horita y A.E. Drukler "Monoamine Oxidase Inhibitors" (Hydrazines). Psychopharmacological Agents. Ed. Gordon, Ac. Press; vol I, 359-443, (1964).
- 11.- C.L. Zirkle y C. Kaiser. "Monoamine Oxidase Inhibitors (Nonhydrazines)". Psychopharmacological Agents. Ed. Gordon, Ac. Press, vol I, 445-554, (1964).
- 12.- Bent T. Ho. Monoamine Oxidase Inhibitors. J. Pharm. Sci. 61, 821-837, (1972).

- 13.- K.P. Pott y J.E. Saxton. Org. Syn., 40, 68, (1960).
- 14.- H. Plieninger. Chem. Ber. 87, 127-9, (1954).
- 15.- M.E. Speeter y W.C. Anthony. J. Amer. Chem. Soc. 76, 6208-6210, (1954).
- 16.- Upjohn Co., U.S. Patent. Chem. Abstr. 52, 12923, (1958).
- 17.- Imperial Chemical Industries, British Patent. Chem. Abstr. 65, 7145, (1966).
- 18.- F.V. Brutcher y W.D. Vanderwerff. J. Org. Chem. 23, 146, (1958).
- 19.- A. Buzas, Ch. Hoffman y G. Renier. Bull. Soc. Chim. Fr. 42, 2073, (1959).
- 20.- F. Troxler, F. Seemann y A. Hofmann. Helv. Chim. Acta 42, 2073 (1959).
- 21.- J.L. Neumeyer, U.V. Moyer y J.E. Leonard. J. Med. Chem. 12, 450, (1969).
- 22.- R. Staufer. Helv. Chim. Acta 49, 1199, (1966).
- 23.- H.R. Snyder y E.L. Eliel. J. Amer. Chem. Soc. 70, 1703, (1948).
- 24.- G.M. Badger, B.J. Christie, H.J. Rodda y J.M. Pryke. J. Chem. Soc. 1179-84, (1958).
- 25.- L.E. Weller y H.M. Sell. J. Org. Chem. 23, 1776, (1958).
- 26.- K.N.F. Shaw, A. McMillan, A.G. Gudmundson y M.D. Armstrong. J. Org. Chem. 23, 1171, (1958).
- 27.- A.R. Katritzky. J. Chem. Soc. 2581-86, (1955).
- 28.- E.D. Hughes y C.K. Ingold. J. Chem. Soc. 523-30, (1933).
- 29.- J.M. Martínez. Información privada. (1972).
- 30.- F. Millich y E.I. Becker. J. Org. Chem. 23, 1096, (1958).
- 31.- J.A. Ballantine, C.B. Barrett, R.J.S. Beer, B.G. Bogiano, S. Eardley, B.E. Jennigs y A. Robertson. J. Chem. Soc. 2227, (1957).
- 32.- M. Litt. Politechnic of Brooklyn. (1953).
- 33.- J-Y. Lallemand y T. Bernath. Bull. Soc. Chim. Fr. 4091, (1970).

- 34.- L.A. Cohen, J.W. Daly, H. Kny y B. Witkop. J. Amer. Chem. Soc. 82, 2184, (1960).
- 35.- Giral-Rojahn. Vol I, 585.
- 36.- Org. Syn. 24, 56.
- 37.- Methoden der Organischen Chemie. Houben-Weyl II, 699.
- 38.- M. Julia y G. Tchernoff. Bull. Soc. Chim. Fr., 741 (1960).
- 39.- E. Werler. Hope Seyler Thierfeider Hadbuch der Physiologisch-Chemischen Analyse. Vol. VI. A Loht Springer. Berlin 653, (1954).
- 40.- N.H. Creasy. Biochem. J. 64, 178 (1956).
- 41.- G.C. Cotzias y V.P. Dole. J. Biol. Chem. 190, 665 (1951)
- 42.- G.C. Cotzias y J.J. Greenough. Arch. Biochem. Biophys. 75, 15 (1958).
- 43.- T.L. Sourkes, E. Torvnsend y G.N. Hasen. Can. J. Biochem. Physiol. 33, 725 (1955).
- 44.- A.L. Green y Th. M. Haugston. Biochem. J. 78, 172 (1961)
- 45.- H. Weissbach, T.E. Smith, J.W. Daly, B. Witkop y S. Udenfriend. J. Biol. Chem. 235, 1160 (1960).
- 46.- H. Soep. Pure Appl. Chem. 3, 431 (1961).
- 47.- H. Soep. "Proceedings of the Second International Symposia on Enzymes in Clinical Chemistry". Ghent. (Belgica). Butterborths (Londres) 9, 481 (1962)
- 48.- E.A. Zeller. The Enzymes. Ed. P.D. Boyer y col. Acad. Pres Inc. Public. 8, 313-35 (1963).
- 49.- B.M. Braganca, J.H. Quastel y R. Schucher. Arch. Biochem. Biophys. 52, 18 (1954).
- 50.- E.J. Conway y A. Byrne. Biochem. J. 27, 419 (1933).
- 51.- A.L. Green y Th.M. Haughton. Biochem. J. 76, 44 (1950).
- 52.- A.L. Green. Biochem. J. 84, 217 (1962).
- 53.- H. Blaschko, D. Richter y H. Schollossmann. Biochem. J. 31, 2187 (1937).
- 54.- H.I. Kohn. Biochem. J. 31, 1693 (1937).

- 55.- V. Zeller, G. Ramachader y E.A. Zeller. J. Med. Chem. 8, 440 (1956).
- 56.- R.A. Dietrich y Erwin. Analytical Biochem. 30, 395 (1962).
- 57.- N.W. Umbreit, R.H. Burris y J.F. Stander. Manometric Techniques. Burgess, Pub. Co. Minneapolis 64, 66, 46, 47, y 1-17 (1959)
- 58.- M. Bernabé. Tesis Doctoral. Madrid. (1965).
- 59.- L. Maitre. J. Pharm. Exp. Therap. 157 (1), 81 (1967).
- 60.- R.P. Hallyday, C.S. Davis, J.P. Heotis, D.T. Pals, E.J. Watson y R.K. Bickerton. J. Pharm. Sci. 57, 430 (1968).
- 61.- L.R. Swett, W.B. Martin, J.D. Taylor, G.M. Everett, A.A. Wykes y Y.C. Gladish. Ann. N.Y. Acad. Sci. 107, 891 (1963)
- 62.- Little, Arthur D., Inc. U.S. Patent. Chem. Abst. 77, 164473 (1972).